



UNIVERSITÀ DI PISA

Dipartimento di Ricerca Traslazionale e delle Nuove Tecnologie
in Medicina e Chirurgia

CORSO DI LAUREA
IN MEDICINA E CHIRURGIA

Tesi di Laurea

Immunosoppressione nella Sclerosi Multipla: valutazione
longitudinale della risposta terapeutica

RELATORE

Chiar.mo Prof. Ubaldo Bonuccelli

CANDIDATA

Francesca Parodi

Anno accademico 2015/2016

Ai miei genitori e alle mie nonne.

SOMMARIO

RIASSUNTO ANALITICO	3
LA SCLEROSI MULTIPLA	4
EPIDEMIOLOGIA	4
EZIOLOGIA	4
IMMUNOPATOGENESI	6
QUADRO CLINICO	18
DIAGNOSI	21
POSSIBILITÀ TERAPEUTICHE NELLA SCLEROSI MULTIPLA	26
TERAPIA DELLA FASE ACUTA	26
TERAPIA DI FONDO	26
RISCHIO DI PML	36
LA STRATEGIA TERAPEUTICA	39
IMMUNOSOPPRESSIONE NELLA SCLEROSI MULTIPLA: VALUTAZIONE LONGITUDINALE DELLA RISPOSTA TERAPEUTICA	42
STUDIO CLINICO	42
RAZIONALE DELLO STUDIO	42
MATERIALI E METODI	42
ANALISI STATISTICA	44
RISULTATI	44
DISCUSSIONE	52
CONCLUSIONI	60
BIBLIOGRAFIA	61
RIGRAZIAMENTI	70

RIASSUNTO ANALITICO

In presenza di un fallimento terapeutico o di eventi avversi dei farmaci di prima linea per il trattamento della Sclerosi Multipla, è consigliato un passaggio a farmaci più potenti di tipo immunosoppressivo (Escalation Strategy); la stessa tipologia di trattamento può essere impostata fin dall'inizio anche nei pazienti naive con elevata attività di malattia (Induction Strategy).

L'obiettivo di questo studio osservazionale retrospettivo è quello di confrontare due gruppi di pazienti con SM-RR trattati con i farmaci immunosoppressori Natalizumab e Fingolimod presso due centri clinici (AOUP e ASL 5 "Spezzino"), andando a comparare le caratteristiche al basale, la risposta terapeutica, la sicurezza e la tollerabilità. Non sono state riscontrate differenze statisticamente significative nell'efficacia dei due farmaci, analizzata attraverso dati su ricadute, RMN e progressione della disabilità, sebbene ci siano state maggiori evidenze a favore di Natalizumab.

Inoltre, non sono stati riscontrati particolari eventi avversi inattesi; va segnalato, però, un maggiore tasso di sospensione per il gruppo Natalizumab a seguito del rischio di PML che si è verificata in una paziente durante il trattamento.

LA SCLEROSI MULTIPLA

La Sclerosi Multipla (SM) è una malattia cronica caratterizzata da infiammazione del sistema nervoso centrale su base autoimmunitaria a cui si accompagnano demielinizzazione, gliosi e perdita neuronale.

L'eziologia di tale patologia è al momento sconosciuta e il suo decorso può essere recidivante-remittente o progressivo ¹.

EPIDEMIOLOGIA

Al momento si stima che circa 2 milioni di persone nel mondo siano affette da SM e la malattia rappresenta la più comune causa di disabilità neurologica nei soggetti giovani.

La prevalenza in Europa varia notevolmente in base al paese di riferimento e le nazioni maggiormente colpite sono Danimarca seguita da Svezia, Ungheria e Regno Unito dove si raggiungono valori maggiori a 200 affetti per 100000 abitanti.

In Italia la prevalenza e l'incidenza sono altamente variabili nelle diverse regioni, ma per entrambi i dati si stanno riscontrando tassi in aumento. Per l'incidenza si stima che ogni anno in Italia vi siano circa 3400 nuovi casi (5-6 casi l'anno ogni 100000 persone, 12 in Sardegna), mentre la mortalità è pari a 0,4 ogni 100000 persone. La prevalenza media della SM per l'Italia si stima, invece, intorno ai 188 casi per 100000 abitanti con un massimo in Sardegna dove abbiamo 360 ogni 100000 persone.

La SM è più comune nelle donne rispetto agli uomini con un rapporto che varia tra 2,5:1 e 3:1 e l'età di esordio è tipicamente tra i 29 e i 33 anni, anche se in assoluto può comparire tra i 10 e i 59 anni d'età.

EZIOLOGIA

La Sclerosi Multipla è sicuramente una malattia multifattoriale; sebbene siano stati identificati più di 100 geni coinvolti ² ci sono importanti evidenze sul fatto che i fattori ambientali giochino un ruolo maggiore nel determinare il rischio di SM. Queste ipotesi sono avvalorate dal fatto che l'incidenza a seguito di una migrazione tende ad essere intermedia tra quella del luogo di nascita e quella della residenza

finale, avvicinandosi di più a quest'ultima se il trasferimento avviene tra i 16 e i 20 anni ^{3,4}.

L'incidenza della SM, inoltre, aumenta man mano che ci si allontana dall'equatore ed una spiegazione proposta per questa correlazione con la latitudine prevede un effetto protettivo dell'esposizione alla luce solare; vari studi hanno ipotizzato un ruolo del deficit di vitamina D nella patogenesi della malattia, probabilmente in quanto essa esercita un'azione regolatoria sulle cellule T ^{5,6,7}.

Secondo alcune teorie, multiple infezioni nella prima infanzia riducono il rischio di SM modulando la risposta immunitaria verso Th2 e cellule T regolatorie e attenuando l'immunità proinfiammatoria mediata dalle cellule Th1 ^{8,9}. Questa ipotesi potrebbe spiegare la geografia della SM in quanto le infezioni con i comuni virus, come Epstein-Barr virus (EBV), tendono a verificarsi nella prima infanzia nelle aree tropicali e subtropicali (bassa frequenza di SM), mentre nelle regioni temperate (alta frequenza di SM) queste si verificano all'inizio dell'adolescenza. EBV rimane il fattore ambientale con maggiori evidenze ^{10,11}, ma probabilmente altri virus potrebbero essere coinvolti nell'insorgenza della SM. Per alcuni autori anche il virus JC, noto per la possibilità di provocare leucoencefalopatia multifocale progressiva nei pazienti con SM in trattamento con natalizumab, potrebbe giocare un ruolo nell'insorgenza della patologia, ma al momento mancano adeguati risultati in merito ^{12,13}.

Tra gli altri fattori ambientali ipotizzati vanno ricordati anche l'obesità in età giovanile ¹⁴, il fumo ¹⁵, una dieta ad alto contenuto di sodio ¹⁶ e, per alcuni autori, anche l'interruzione dei ritmi circadiani ¹⁷.

Sebbene non si tratti di una patologia ereditaria vi è una importante componente genetica di suscettibilità, evidenziata da cluster di casi di SM in alcune famiglie e dal fatto che il rischio di SM tra parenti di primo grado di pazienti con SM è 10-50 volte più alto della popolazione generale; la concordanza nei gemelli monozigoti è circa un terzo ¹⁸. I loci genetici maggiormente coinvolti sono quelli del complesso maggiore di istocompatibilità (MHC) HLA DR15/DQ6 con i corrispondenti genotipi DRB1*1501, DRB5*0101, DQA1*0102 e DQB2*0602 ¹⁹. Questa associazione è più forte nel Nord Europa, ma è vista in tutte le popolazioni tranne che in Sardegna e in altre zone mediterranee in cui la malattia è associata a DR4 (DRB1*0405–

DQA1*0301–DQB1*0302)²⁰. Recentemente è stata identificata, inoltre, l'associazione con il gene del recettore alfa delle interleuchine 2 e 7 (IL2RA e IL7RA)²¹.

IMMUNOPATOGENESI

La tipiche lesioni della Sclerosi Multipla sono causate dall'infiltrazione delle cellule immunitarie oltre la barriera emato-encefalica con sviluppo di infiammazione, demielinizzazione, gliosi, degenerazione assonale e conseguente interruzione del segnale nervoso²². La precisa natura della patologia resta ancora da chiarire, sebbene la malattia venga considerata di origine autoimmune a partire da linfociti autoreattivi che inducono risposte aberranti contro antigeni del SNC.

Dunque sebbene l'esatta causa rimanga al momento ignota, la malattia sembra svilupparsi in individui geneticamente suscettibili in presenza di eventi stocastici e fattori ambientali che ne influenzano la penetranza.

La maggior parte delle conoscenze sull'immunopatogenesi dell'SM deriva da studi effettuati su encefaliti autoimmuni sperimentali (experimental autoimmune encephalomyelitis, EAE), modelli animali dell'infiammazione demielinizzante che viene indotta con l'immunizzazione periferica mediante componenti mielinici; i modelli più efficaci utilizzano antigeni come MBP (myelin basic protein), PLP (proteolipid protein) e MOG (myelin oligodendroglial glycoprotein). L'EAE comprende molte delle caratteristiche istologiche dell'SM inclusi attiva demielinizzazione, perdita oligodendrocitica e assonale²³. Gli studi condotti in vivo hanno, infatti, contribuito alla comprensione dell'autoimmunità e della neurodegenerazione indotta da infiammazione e hanno permesso lo sviluppo di alcune terapie. Al tempo stesso bisogna comunque tenere presenti alcune delle differenze delle EAE rispetto alla SM che riguardano l'induzione della malattia attraverso adiuvanti, il decorso spesso monofasico, la localizzazione delle lesioni più frequentemente a livello midollare, l'infiltrato prevalentemente composto da linfociti CD4⁺ e le differenze immunologiche che intercorrono tra la specie umana e quella animale²⁴.

Al momento rimane ancora da capire se la SM sia innescata da eventi immunologici a partenza periferica o intrinseci allo stesso SNC.

Il modello che prevede un intervento di fattori estrinseci al SNC ipotizza che si formino linfociti T autoreattivi a livello di siti periferici, probabilmente con meccanismi di molecular mimicry ²⁵, e che essi migrino attraverso la BEE insieme a cellule B attivate e monociti. Questa ipotesi è coerente con quanto mostrato nelle encefaliti autoimmuni sperimentali (EAE): antigeni cerebrali emulsionati sono somministrati con immunostimolanti, dando origine a generazioni di linfociti CD4⁺ T_H1 e T_H17 nei linfonodi periferici; queste cellule entrano nel circolo ematico ed espletano la loro funzione all'interno del SNC dopo aver attraversato la barriera emato-encefalica o quella emato-liquorale a livello dei plessi corioidei. Affinché questo accada vi deve essere perdita della tolleranza autoimmunitaria attraverso una ridotta funzione delle cellule T regolatorie e/o una aumentata resistenza delle cellule effettrici B e T ai meccanismi soppressivi.

Altre teorie, invece, considerano la malattia come un fenomeno secondario ad eventi intrinseci al SNC, ad esempio infezioni virali sconosciute, anche grazie alle recenti rivalutazioni sulla sorveglianza immunitaria a livello cerebrale come la scoperta di vasi linfatici funzionali che affiancano i seni venosi della dura madre ^{26,27}. Anche iniziali processi di neurodegenerazione, simili a quelli implicati nelle Malattie di Alzheimer o Parkinson, potrebbero essere coinvolti nella patogenesi della SM ²⁸.

La formazione di lesioni infiammatorie all'interno del SNC è una componente fondamentale del sistema immunitario innato nelle forme relapsing-remitting di SM. Questi processi sono coadiuvati dal formarsi di manicotti perivascolari, in particolare perivenulari, costituiti da linfociti T, monociti/macrofagi, cellule dendritiche e linfociti B. La migrazione di queste cellule rappresenta un momento cruciale nella storia naturale della malattia, ma quale evento scateni precisamente questo processo rimane al momento poco chiaro.

Una volta attivati contro la mielina i linfociti T possono migrare attraverso la BEE con una tras migrazione mediata dall'interazione tra l'antigene VLA-4 (Very Late Antigen 4) espresso dai linfociti T e le molecole di adesione VCAM-1 (Vascular Cell Adhesion Molecule-1) espresse sui capillari endoteliali. Tale processo è facilitato

dall'espressione e up-regolazione di varie molecole di adesione, chemochine e metalloproteasi (MMPs)²⁹.

Le cellule endoteliali possono attivarsi in risposta al reclutamento di leucociti o a citochine da questi prodotte come il tumor necrosis factor- α (TNF α), interferone gamma (IFN γ) ed interleuchine (IL-17, IL-22 e IL-1b). Infatti, sia nell'EAE che nella SM le molecole di adesione intercellulari CAM-1(ICAM-1), vascolari CAM-1 (VCAM-1) e attivate dai leucociti (ALCAM) sono upregolate nell'endotelio vascolare; in questo processo è fondamentale il reclutamento linfocitario che continua ad essere presente durante la fase attiva delle lesioni. Il primo stadio del reclutamento coinvolge le forze di taglio imposte dal torrente circolatorio e comporta la temporanea cattura dei leucociti circolanti mediante le molecole di adesione di superficie. In molti tessuti questo primo step è mediato dall' L-selectina, espressa sulla maggior parte dei leucociti, e dalle E- e P- selectine espresse sulle cellule endoteliali. Attraverso questa precoce interazione si ha la formazione di una associazione temporanea per cui i leucociti rotolano lungo la parete vasale nella direzione del flusso.

L'espressione delle chemochine linfoidi CCL19/ELC e CCL21/SLC sembra avere un ruolo importante nel propagarsi della neuroinfiammazione. Si ha così un richiamo dei linfociti che coinvolge i tessuti linfoidi secondari con conseguente migrazione dei T linfociti nel SNC durante i processi di immunosorveglianza e l'infiammazione cronica. In condizioni omeostatiche CCL19 è espresso nella BEE nell'uomo e nei roditori e viene upregolato nell'SM e nell'EAE; esso può, inoltre, mediare l'attivazione delle cellule T e delle APC che esprimono il CCR7. Inoltre le cellule endoteliali encefaliche umane in vitro esprimono alti livelli di CXCL10 e CXCL8 che possono contribuire alla risposta prevalentemente T_H1 nell'SM^{30,31,32}.

La migrazione di linfociti T autoreattivi attraverso le BEE è uno dei momenti critici nell'inizio delle EAE dove cellule T CD4⁺ sono ri-attivate nel SNC da cellule presentanti l'antigene (APCs), con una risultante risposta infiammatoria che comporta il reclutamento di monociti e l'attivazione di linfociti CD4⁺ naive attraverso fenomeni di epitope spreading (esposizione di ulteriori antigeni mielinici, target addizionale per le cellule T autoreattive). Le cellule T_H1 e T_H17 rappresentano i principali sottogruppi di linfociti CD4⁺ coinvolti nella malattia e studi contrastanti

riportano una predominanza variabile di un tipo rispetto all'altro al momento della diagnosi e durante ricadute e progressione³³.

Le citochine prodotte dalle cellule TH1, di cui la principale esponente è l'IFN gamma giocano un ruolo patogenetico nella SM attivando altre cellule immunitarie o esercitando effetti pro-apoptotici sugli oligodendrociti; un ruolo fondamentale dell'IFN-gamma è stato dimostrato dallo sviluppo di ricadute in pazienti a cui esso veniva somministrato³⁴. Le cellule T_H17 sono caratterizzate dalla produzione di un distinto profilo di citochine effettrici, di cui la principale è IL-17, ed hanno un ruolo centrale nell'indurre infiammazione a livello del SNC; esse attivano la microglia, richiamano neutrofili a livello del SNC, inducono il rilascio di metallo proteinasi che distruggono la BEE e portano a danno mielinico ed assonale³⁵. Inoltre le cellule T_H17 sono state riscontrate con livello significativamente più alto nel liquido cerebrospinale di pazienti con SMRR durante ricadute, rispetto agli stessi pazienti durante remissione o rispetto ad altri pazienti con altra patologia neurologica³⁶.

I T_H2 che secernono IL4, 5 e 10 hanno un ruolo regolatorio, limitando l'insulto da parte delle cellule T_H1. Il paradigma Th1/Th2 è più evidente nell'EAE, mentre nell'SM ne abbiamo l'evidenza indiretta mediante le terapie (IFN β , Glatiramer Acetato e Dimetil-fumarato), che shiftano il profilo delle citochine da T_H1 verso T_H2^{37,38,39}.

Le cellule T CD8⁺ sono riscontrate più frequentemente rispetto alle CD4⁺ nelle lesioni corticali della sostanza bianca e della sostanza grigia e il loro numero sembra correlato con il danno assonale²². Probabilmente queste cellule hanno un ruolo fondamentale, non ancora del tutto compreso, nella patogenesi della malattia, in quanto cellule T CD8⁺ specifiche per la mielina sono prontamente attivate a livello del SNC tramite epitope spreading e cross-presentation (nel contesto di MHC di classe II) da parte di cellule dendritiche di origine monocitaria⁴⁰.

Il contributo delle cellule B alla patogenesi dell'SM, attraverso la produzione di autoanticorpi e la presentazione dell'antigene alle cellule T, è stato recentemente riconosciuto⁴¹ ed è supportato dall'eterogeneità delle lesioni, dalla presenza di infiammazione delle meningi riscontrata nelle forme primariamente progressive⁴² e dal riscontro di strutture linfoidi terziarie nelle secondariamente progressive⁴³; anche il successo delle terapie immuni che bersagliano le cellule B, come Rituximab⁴⁴ e

Ocrelizumab⁴⁵, sembra confermare l'importanza di questi linfociti. Un'ulteriore prova, con valenza diagnostica, è la presenza delle bande oligoclonali nel liquor nelle fasi precoci di malattia; esse rappresentano anticorpi sintetizzati da cellule B aggregate che popolano le meningi e il parenchima cerebrale e, sebbene il loro target antigenico sia ancora ignoto, reagiscono contro la sostanza bianca dei pazienti con SM⁴⁶.

La formazione di linfociti T e B autoreattivi nel contesto della SM, potrebbe dipendere da ridotta funzione delle cellule regolatorie, come le cellule T_{reg} (FOXP3-expressing CD4+ regulatory T cells) e T_R1 (IL-10 producing T regulatory type 1 cells)^{47,48}, o da aumentata resistenza delle cellule T effettrici alla regolazione, probabilmente attraverso segnali indotti da IL6⁴⁹.

Sebbene la demielinizzazione sia la caratteristica fondamentale di questa patologia, il danno assonale precoce e la perdita assonale sono altrettanto presenti e portano a progressione della disabilità⁵⁰. L'esatto meccanismo di danno mielinico e assonale non è stato completamente chiarito, ma è verosimile che includa sia il danno diretto, mediante linfociti T CD4+ e CD8+, microglia/macrofagi, anticorpi e complemento sia quello mediato da citochine proinfiammatorie come IL1 β , TNF α , ossido nitrico e MMPs⁵¹.

Il concetto di reazione autoimmune contro la mielina mediante risposta immunitaria adattativa è stato messo in crisi, come spiegazione eziologica integrale, da alcune recenti evidenze. Negli eventi precoci dell'SM si ha perdita di oligodendrociti e mielina anche con assenza di cellule B o T e ciò suggerisce che siano coinvolti altri agenti dell'immunità oltre ai linfociti^{52,53}. Un'altra evidenza è che grandi aree di perdita mielinica si riscontrano nelle vie motorie e sensoriali attribuendo questa perdita all'azione di cellule immunitarie infiltranti⁵⁴. Inoltre nei pazienti che ricevono trapianto autologo di midollo osseo sono state trovate lesioni demielinizzanti espansive con poche o nessuna cellula T, suggerendo un processo patologico intrinseco in queste lesioni.

In accordo con queste evidenze assume un ruolo importante il sistema immunitario innato sia nell'inizio che nella progressione dell'SM, attivando la funzione effettrice di cellule T e B in modo simile a quanto succede quando è coinvolto un agente patogeno^{55,56}.

Tra i componenti dell'immunità innata sono importanti, nel contesto della SM, i recettori della famiglia Toll-like e NOD-like, le proteine Heat-shock, le cellule natural killer, alcune interleuchine, le mastocellule, i fagociti mononucleati, le cellule TH17.

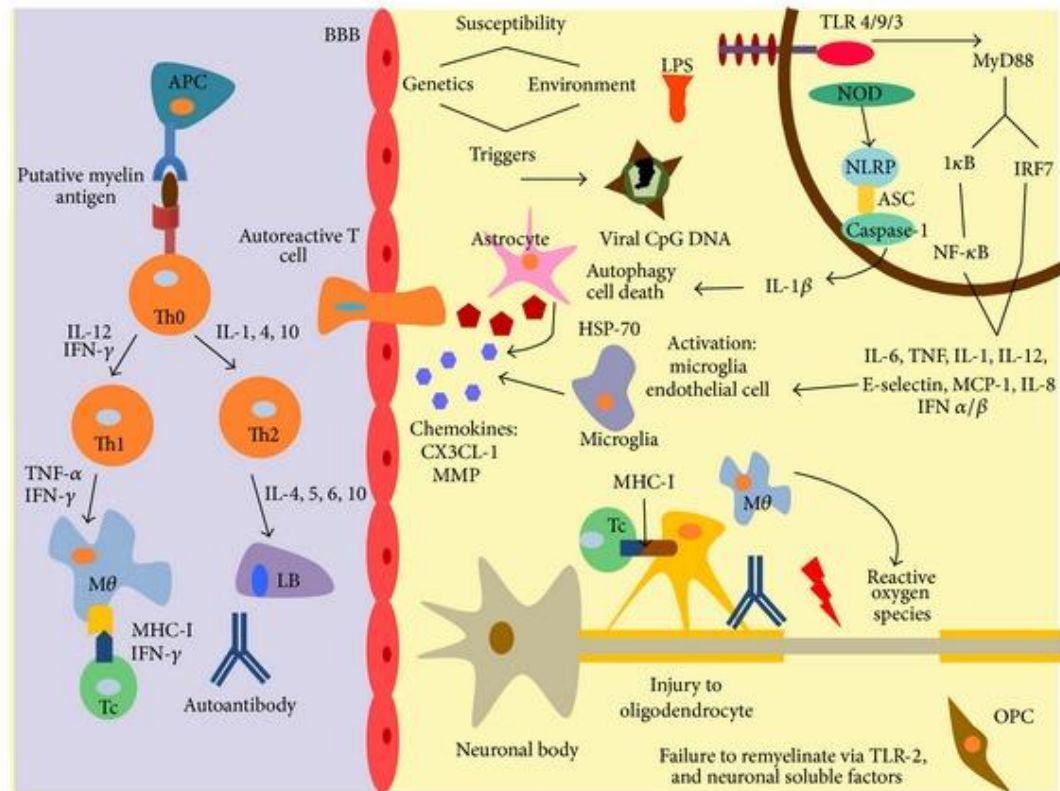


Fig. 1 Immunopatogenesi dell'SM. (Hernández-Pedro et al 2013 ⁵⁷)

La famiglia dei TLR è una famiglia di recettori del sistema immunitario localizzata sia alla superficie cellulare che negli endosomi di diversi tipi cellulari, sia immunitari che non immunitari, la cui attivazione avviene per la maggior parte grazie a macrofagi e altre APC come cellule dendritiche e cellule B⁵⁸. Inoltre i TLR sono coinvolti nel riconoscimento di pattern molecolari associati ai patogeni (PAMPs) che portano all'attivazione trascrizionale dei geni che codificano per citochine, chemochine e molecole costimolatrici che di conseguenza attivano la risposta immune innata⁵⁹.

I ligandi dei recettori della famiglia Toll-like (TLR) sono deputati allo switch di classe in risposta ad un agente patogeno scegliendo tra una risposta T cellulare

dipendente e una T indipendente mediata da anticorpi; è stato imputato anche un loro ruolo in patologie autoimmuni come SM e EAE⁶⁰ attraverso alcuni ligandi endogeni. I TLR di tipo 2, 7 e 9 mediano la progressione dell'SM, mentre il tipo 3 protegge dalla malattia mediante attivazione del sistema immunitario innato⁶¹. I TLR-2 sono coinvolti nella regolazione della rimielinizzazione, mentre i TLR-9 riconoscono il DNA virale nelle prime fasi di una infezione; entrambi questi sottotipi sono stati identificati nella risposta all'infezione verso vari virus (HSV 1 e 2, CMV, HCV, EBV, VZV)⁶² e sembrano indurre la produzione di citochine infiammatorie incluse IL-6, IL-8 e TNF α . I TLR di tipo 3 hanno, invece, la capacità di sopprimere la recidiva di demielinizzazione nell'EAE e di innescare la risposta neuroprotettiva negli astrociti, mentre nei controlli sani inducono la crescita degli assoni e dei progenitori cellulari neuronali, suggerendo un ruolo addizionale di TLR3 nel SNC e nell'SM⁶³.

In aggiunta, i TLR di tipo 7 sono stati recentemente implicati nelle malattie anticorpo-mediate come l'SM, stimolando la maturazione e differenziazione dei linfociti B verso la produzione di immunoglobuline. Recentemente è stato dimostrato che nei pazienti con SM si ha una ridotta produzione di IgM e IgG indotta da TLR-7 e questo può correlare con un peggioramento della malattia o una ridotta risposta contro infezioni virali⁶⁴. La modulazione di TLR-7 potrebbe essere un potenziale target terapeutico per la sua capacità di bloccare il profilo umorale della malattia.

I dati epidemiologici e gli esperimenti su animali indicano l'importanza dell'esposizione ad agenti microbici in giovane età perché questo permette l'espansione del repertorio antigenico e aumenta la tolleranza immunitaria. Il lipopolisaccaride batterico interagisce attraverso TLR-4 stimolando vie di segnale che aumentano la migrazione di linfociti T_{reg} e la produzione di citochine immunomodulatorie, riducendo il numero di cellule T autoreattive⁶⁵.

Oltre ai TLR è stata individuata un'altra classe di molecole note come recettori NOD-like (dominio di legame dei nucleotidi, contenete ripetizioni ricche di leucina, NLR) che, in modo simile ai TLR, riconoscono molecole derivate dai patogeni e sono coinvolte in prima linea durante le infezioni, andando a riconoscere pattern molecolari di stress cellulare in risposta all'infezione. Essi, rispetto ai TLR, sono sensibili anche a segnali diversi come ad esempio radicali dell'ossigeno, ultravioletti

B e bassi livelli di K^+ intracellulari ⁶⁶. Le proteine associate ai NLR (NLRP3, NLRP1 e NLRC4) sono attivate dai pattern molecolari associati ai patogeni risultando nel reclutamento di proteine adattatrici degli inflammasomi (complessi di segnali auto-oligomerizzanti e attivanti la caspasi-1) e procaspasi-1⁶⁷. Gli inflammasomi associati a NLRP tipo 1 e 3 sono espressi nei linfociti T e B, mentre l'inflammasoma NLRP1 è inoltre espresso nei neuroni piramidali e negli oligodendrociti, ma non nelle cellule microgliali o astrocitarie ⁶⁸. Questi complessi multi proteici attivano la caspasi-1 che di conseguenza determina secrezione di IL1 beta e IL18, ma media anche altri processi come l'autofagia e la morte cellulare.

Le citochine IL1 beta e IL18 mostrano simili strutture, meccanismo di azione, vie di trasduzione del segnale ed effetto proinfiammatorio inducendo cambiamenti nella BEE in senso permeabilizzante per il trasporto di sostanze e l'infiltrazione delle cellule immuni nell'encefalo. Evidenze circa l'attivazione dell'inflammasoma nell'SM sono scarse, ma studi clinici hanno identificato un ruolo importante delle citochine inflammasoma-derivate nella patogenesi dell'SM. Ad esempio alcuni polimorfismi del gene per l'IL1 beta e per l'antagonista IL1R sono dimostrati essere associati con la gravità di malattia ^{69,70}. Un'altra evidenza deriva dall'osservazione che l'interferone beta, farmaco importante nello scenario terapeutico dell'SM, attenua il decorso di malattia modulando l'attivazione dell'inflammasoma e la conseguente produzione di IL1⁷¹. In particolare l'INF-b reprime potentemente l'attivazione degli inflammasomi con NLRP tipo 1 e 3, sopprimendo la secrezione di IL1 caspasi-dipendente; l'effetto inibitorio di INF-b è mediato da cellule del sistema immune innato, come macrofagi e cellule dendritiche che inibiscono la risposta dei Th 17 attraverso l'IL-27⁷².

Altre proteine coinvolte sono le HSP (Heat Shock Proteins), che esercitano funzioni immunomodulanti verso uno stimolo stressogeno ed hanno un ruolo nell'accrescere la risposta immunitaria mediante attività di chaperone, poiché una volta formati i complessi HSP-antigene è permessa l'attivazione di molecole di MHC di classe I stimulate da linfociti T citotossici. Nel sistema immunitario innato l'HSP agisce come uno stimolatore immunitario riconosciuto dai TLR⁷³ o attiva la maturazione delle APC mediante l'interazione con TLR2, TLR4 e CD40; questi complessi

stimolerebbero la risposta cellulare T CD4⁺ seguita dall'attivazione della risposta immune mediante le molecole del complesso MHC di classe II⁷⁴.

Una HSP che ha un ruolo cruciale è l'HSP 70 che agisce come un chemoattrattivo che innesca l'effetto citotossico delle cellule natural killer (NK) mediandone l'interazione con CD94. L'HSP 70 porta all'attivazione della trascrizione del fattore NF-KB nei monociti, macrofagi e cellule dendritiche ed inducendo produzione di citochine proinfiammatorie (IL-12, IL-1b, IL-6, TNFa, and GM-CSF), secrezione di chemochine, produzione di ossido nitrico dai macrofagi, espressione di CD83, CD86 e CD40 così come di MHC di classe II sulle cellule dendritiche e migrazione di queste cellule verso i linfonodi drenanti, innesco della risposta immune adattativa⁷⁵.

Queste evidenze dimostrano che le HSP potrebbero indurre lo switch dalla iniziale risposta immune innata a quella adattativa, perpetuandola per tutta la durata della malattia.

Le cellule NK possono avere un ruolo nella regolazione dell'SM e dell'EAE, sebbene la loro importanza rimanga tutt'ora non chiara. Alcuni studi⁷⁶ suggeriscono che le NK favoriscano l'SM mediante attività citolitica, produzione di citochine, interazione con APC e cellule B e T, mentre un altro studio⁷⁷ indica che il blocco dell'ingresso delle NK nel SNC risulta in esacerbazione della malattia. E' stato associato, inoltre, l'incremento dell'attività delle cellule NK con l'aumento del rischio di sviluppare lesioni attive nell'SM-RR⁷⁸. Durante i periodi di remissione le cellule NK producono IL-5, fattore che le lega alla risposta Th2 e suggerisce che possano competere con le cellule Th1 patogeniche. Inoltre i livelli di CD95 più alti negli stessi pazienti dimostravano un ruolo protettivo di questa citochina verso la morte cellulare mediata da cellule NK nell'SM. Infatti, durante le ricadute di SM l'espressione dell'mRNA di IL5 e CD95 da parte delle NK era significativamente ridotto. In accordo a questi dati si può immaginare che i cambiamenti funzionali delle NK possono avere un ruolo chiave nell'innescare le riesacerbazioni cliniche nell'SM indipendentemente dalle cellule T⁷⁹.

È stato dimostrato, inoltre, che le interleuchine IL2 e IL7 sono associate con la regolazione dell'autoimmunità e con i modelli animali di EAE. L'IL2 è stata associata con la regolazione della proliferazione cellulare T, sopravvivenza e differenziazione di effettori (Th1/Th2); la sua azione consiste, dunque, nel

mantenimento della tolleranza T linfocitaria periferica per cui si pensa che la compromissione dell'attività regolatoria T cellulare sia dovuta ad una mancanza dell'IL2⁸⁰. Il segnale mediato dall'IL7 è cruciale per la proliferazione e sopravvivenza dei linfociti T negli umani e nei modelli animali ed alcuni studi dimostrano come alti livelli di IL7 possano predire una maggior responsività all'INF β . Quindi l'IL7 da sola o in combinazione con IL12 può promuovere la differenziazione cellulare dei Th1⁸¹.

I neutrofili sono essenziali per contenere e bonificare dagli agenti infettivi, ma per il loro potenziale istotossico indiscriminato sono finemente regolati da un meccanismo che prevede un "priming" prima di una piena attivazione; l'iniziazione di queste cellule dipende da un ampio range di molecole che includono citochine proinfiammatorie, fattore attivante le piastrine (PAF), INF-gamma, fattore di stimolazione di colonie granulocito-macrofagiche (GM-CSF), IL-6 e IL-8⁸².

I neutrofili dei pazienti SMRR non sono solo più abbondanti rispetto ai controlli, ma esprimono un livello maggiore di TLR2, CD43, FPR1 e CXCR11 fatto che supporta l'ipotesi che i neutrofili nell'SMRR siano stimolati dall'infiammazione cronica⁸³. Un più alto rilascio di elastasi e catepsina G dai neutrofili innescati può contribuire alla patogenesi dell'SM, non solo mediante danno diretto dei tessuti, ma anche mediante potenziamento dell'attivazione T cellulare⁸⁴. Inoltre i granuli dei neutrofili contengono anche le metalloproteasi di matrice (MMP-9) che partecipano alla compromissione della BEE e sono incrementati durante le ricadute⁸⁵.

I mastociti nel SNC possono ritrovarsi in localizzazioni perivascolari, più specificamente del lato leptomeningeale della BEE, e ciò fa pensare ad un loro possibile contributo nel regolare il traffico di cellule immuni attraverso la BEE⁸⁶. Alcune evidenze che supportano il ruolo dei mastociti nella SM sono il fatto che sono stati ritrovati nelle lesioni demielinizzanti più frequentemente croniche, talvolta associati con gli infiltrati immuni nelle aree perivascolari ed anche nel parenchima encefalico⁸⁷. Inoltre le proteine mieliniche come la proteina basica della mielina (MBP) possono attivare le mastocellule nel ratto mediante l'interazione con i recettori degli scavenger⁸⁸. Infine la concentrazione di triptasi delle mastocellule è stata riscontrata a livelli significativamente più alti nel liquido cerebrospinale dei pazienti con SM⁸⁹. Dunque, sebbene i mastociti siano implicati nello sviluppo di MS

ed EAE⁹⁰, il loro esatto ruolo nelle patologie autoimmuni del SNC è ancora da chiarire.

La microglia è il principale effettore del sistema immune innato che risiede nel SNC ed appartiene al gruppo dei fagociti mononucleati; ha un ruolo centrale nell'inizio della risposta infiammatoria acuta e nella bonifica del tessuto danneggiato fino alla cicatrizzazione. Durante le malattie infiammatorie, come l'SM, i monociti sono ripetutamente richiamati dalla periferia a rinforzare la reazione infiammatoria locale nel SNC. Nell'SM i macrofagi agiscono come APC perpetrando la diffusione di epitopi su cellule T che attraversano l'encefalo passando la barriera ematoencefalica⁹¹. Nella sostanza bianca normale si ha una bassa espressione di MHC di classe II che viene up-regolata dopo un danno o una reazione immune originata in compartimenti sistemici o nell'ambiente locale. Bassi livelli di endotossine circolanti possono innescare l'espressione di MHC di classe II sui macrofagi perivascolari, questo fatto ci fa ipotizzare il perché le infezioni possono essere correlate alle ricadute. L'inizio per la microglia di uno stato immunocompetente di cellula presentante l'antigene innesca una cascata di cellule immuni, specialmente cellule T neuro-specifiche, con propagazione e risoluzione di lesioni infiammatorie⁹².

Riassumendo, l'autoimmunità mediata dalle cellule T autoreattive attiva il sistema immunitario innato nella fasi iniziali della patogenesi della SM (barriera epiteliale, recettori associati a pattern di patogeni di tipo TLR o NOD, microglia, HSPs) come prima linea di difesa dell'ospite, elicitando la tolleranza immunitaria. E' stato dimostrato che in molte vie il sistema immunitario innato (TLR 7, 3, 9, neutrofili, macrofagi) offre l'interfaccia alla risposta adattativa, non solo regolando il danno cellulare ma anche permettendo che le cellule T CD4+ autoreattive reagiscano contro gli oligodendrociti. Al fine di interrompere la cascata infiammatoria bisognerebbe inibire il trigger iniziale del sistema immunitario innato⁵⁷ in quanto le terapie immunomodulanti e immunosoppressive vanno ad incidere soltanto sull'immunità adattativa.

Nelle fasi tardive della malattia l'infiltrazione di cellule immunitarie diminuisce, forse a causa dell'esaurimento del sistema immunitario adattativo a seguito della

cronica esposizione all'antigene. Al tempo stesso, però, continuano l'infiammazione cronica del SNC e la neuro degenerazione, forse a seguito della formazione di strutture linfoidi terziarie nelle forme secondariamente progressive o per la persistente attività del sistema immunitario innato⁹³.

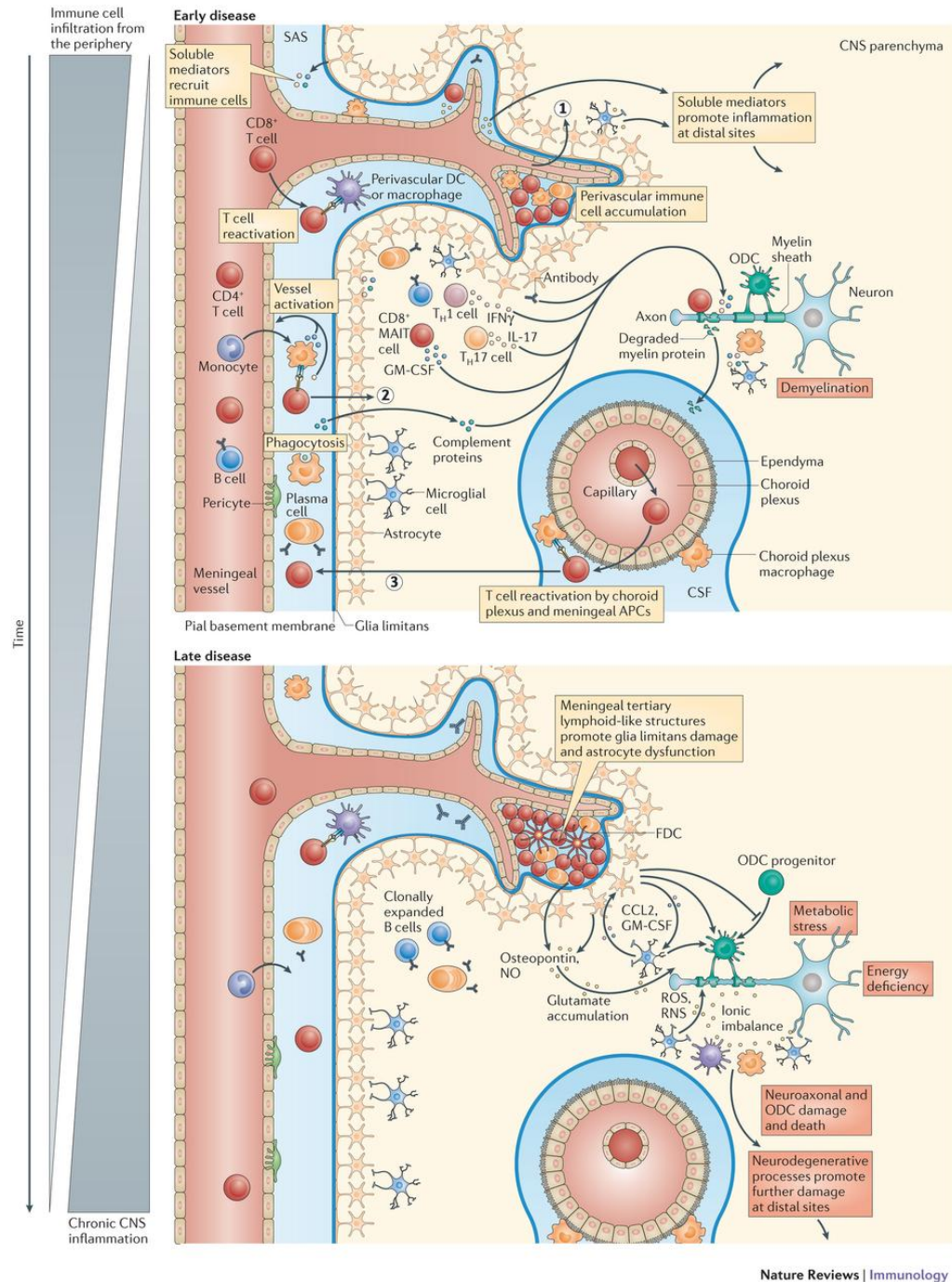


Fig. 2 Perdita di regolazione immunitaria nel SNC nelle fasi iniziali e tardive di SM. (Dendrou et al, 2015⁹³).

QUADRO CLINICO

La SM è una patologia che frequentemente presenta un esordio improvviso con sviluppo di un deficit neurologico, ma in alcuni casi può manifestarsi anche in maniera insidiosa. La sintomatologia è estremamente variabile e dipende dalla localizzazione e dalla gravità delle lesioni a livello del SNC.

<i>Sintomi di esordio più frequenti</i>	<i>Sintomi meno frequenti (nell'insieme <10%)</i>
Ipostenia ad uno o più arti	Nevralgia trigeminale
Neurite ottica	Altri disturbi parossistici
Disordini sensitivi	Lesioni a livello di altri nervi cranici (es. VII)
Disordini dell'oculomotricità con diplopia	Crisi epilettiche
Disturbi sfinterici	Disturbi urogenitali
Vertigini	Disturbi cognitivi e della sfera affettiva

Tab. 1 Sintomi di esordio della Sclerosi Multipla

In circa la metà dei casi la perdita di forza e/o l'intorpidimento di uno o più arti sono i sintomi iniziali caratteristici. I disturbi iniziali tendono nella maggior parte dei casi a regredire dopo un periodo di tempo variabile ed in seguito possono ripresentarsi o possono comparire altri sintomi e segni di sofferenza focale del SNC. La malattia è molto eterogenea e saranno così diversi per ogni singolo paziente l'età di esordio, il sintomo iniziale, la frequenza delle ricadute, il decorso della malattia, la disabilità e la sua progressione. Nei casi avanzati, tuttavia, i disturbi motori, la spasticità, l'atassia, le turbe della sensibilità, i deficit visivi e le turbe sfinteriche sono pressoché costantemente presenti.

Le funzioni maggiormente colpite sono quindi in primo luogo quelle piramidali con sviluppo di ipostenia, che può manifestarsi con monoparesi, emiparesi, o paraparesi. Nei casi di interessamento più lieve si riscontrano segni tipici di interessamento del sistema piramidale come iperreflessia profonda, segno di Babinski, assenza dei riflessi addominali, mioclono del piede e della rotula all'esame obiettivo neurologico. Sintomo molto frequente, dovuto alla lesione delle vie cortico-spinali, è la spasticità

di intensità variabile: da accessi di spasmi tonici, tipicamente notturni e dolorosi, fino ad ostacolare nei casi più gravi il mantenimento della posizione seduta.

Il secondo sistema funzionale maggiormente colpito è quello visivo: si tratta di un calo del visus che si sviluppa in alcuni giorni, con sensazione di vedere “appannato” o vere e proprie alterazioni nella visione dei colori spesso precedute o in concomitanza con dolore retro o sovraorbitario; questa condizione viene denominata neurite ottica retrobulbare ad indicare un focale interessamento infiammatorio a carico del nervo ottico.

Altro sintomo, sebbene meno tangibile dal punto di vista obiettivo è la fatica, da alcuni definito stigma della patologia e che si può descrivere come senso opprimente di stanchezza, mancanza di energia e sensazione di spossatezza esagerata rispetto all’effettivo livello di attività effettuata. Essa può comparire a qualsiasi stadio della malattia e non è strettamente correlata con la disabilità e con la compromissione delle funzioni piramidali, ma è notevolmente esacerbata da aumenti della temperatura corporea.

Spesso si riscontrano sintomi di tipo cerebellare, riassunti nella classica triade: nistagmo, tremore intenzionale e disartria; il sintomo maggiormente frequente è l’atassia, statica e dinamica, che nelle forme più gravi interessa anche gli arti inferiori e il tronco. Nelle forme avanzate di malattia è caratteristica l’andatura atassospastica, per coinvolgimento contemporaneo del sistema piramidale e cerebellare. Sono spesso presenti dismetria e soprattutto tremore intenzionale di grande ampiezza, che influenza negativamente la normale gestualità del paziente.

Talora si ha il coinvolgimento delle funzioni del tronco encefalico che si manifestano tramite segni di interessamento delle vie lunghe ascendenti e discendenti e dei nervi cranici. Un sintomo molto tipico è la diplopia, per l’interessamento dei centri dell’oculomotricità e a seguito dell’oftalmoplegia internucleare, caratterizzata da deficit dell’adduzione nell’occhio omolaterale al fascicolo leso e da nistagmo orizzontale, nell’occhio contro laterale abdotto. Si può inoltre avere il caratteristico nistagmo pendolare, cioè caratterizzato da due fasi di uguale velocità, con l’assenza di una chiara direzionalità. Nelle forme più avanzate vi può essere un danno dei nervi cranici bulbari o dei tratti cortico-bulbari, con disfagia, disfonia e disartria.

Tipico è l'interessamento del sistema vestibolare, che si manifesta con alterazioni dell'equilibrio alla stazione eretta ed alla deambulazione.

Possono essere colpite anche le funzioni sfinteriche e viscerali, solitamente a seguito dell'interruzione delle vie discendenti di controllo; la manifestazione più tipica è rappresentata dall'iperreflessia detrusoriale e i pazienti avvertono tale anomalia come urgenza minzionale, talora associata ad una vera e propria incontinenza da urgenza.

Infine, non va dimenticato l'interessamento delle funzioni cognitive con manifestazioni tipiche della demenza sottocorticale: perdita della memoria di fissazione, del mantenimento dell'attenzione e della fluenza verbale nonché riduzione della capacità critiche di astrazione. In altri casi si può evidenziare il quadro psicocognitivo della demenza da interessamento prefrontale o della sindrome pseudo-bulbare. Dal punto di vista psichico è molto frequente lo sviluppo di disturbi del tono affettivo e di una vera e propria depressione, ma in alcuni casi si può evidenziare uno stato di euforia, inappropriato allo stato di malattia, con indifferenza per l'evento morboso^{94,1,95}.

Durante la gravidanza si registra una diminuzione nella frequenza di ricadute, in particolare nel terzo trimestre, ed un aumento nei primi tre mesi dopo il parto. Questo effetto è stato messo in relazione col fatto che l'unità feto-placentare produce citochine, che riducono l'immunità cellulare della madre, mentre il puerperio potrebbe, invece, essere associato con un'inversione di questo bilancio di citochine⁹⁶. Attualmente il grado di severità della SM, che deriva dalle sequele neurologiche indotte dal danno anatomico, si valuta attraverso una serie di scale cliniche, di cui la più utilizzata è l'EDSS (Expanded Disability Status Scale) proposta da Kurtke nel 1983.

DIAGNOSI

I criteri diagnostici utilizzati oggi sono i Criteri di McDonald proposti nel 2001, rivisti nel 2005 e più recentemente nel 2010⁹⁷; essi si basano sull'evidenza di disseminazione spaziale (DIS) e temporale (DIT) utilizzando la clinica o i dati di RMN. In breve si può dire che questi criteri per effettuare diagnosi di SM richiedono la presenza di almeno 2 attacchi o obiettività clinica/radiologica di almeno 2 lesioni o evidenza clinica obiettiva di 1 lesione con storia clinica di un attacco precedente. Con un attacco clinico la DIT può essere evidenziata dalla presenza simultanea alla RMN di lesioni captanti e non captanti il mezzo di contrasto o dalla presenza di nuove lesioni ad una seconda RMN effettuata in un qualsiasi tempo dopo l'esordio. La DIS invece consiste nell'evidenza di almeno una lesione in almeno due regioni caratteristiche (periventricolare, sottocorticale, sottotentoriale e midollo spinale). L'esame del liquor valuta la produzione intratecale di immunoglobuline, valutando la presenza di bande oligoclonali e l'aumento dell'indice di Link; bisogna però tener presente che tale esame risulta positivo solo nell'85% dei pazienti con SM. Dunque sia l'esame del liquor che l'esecuzione di potenziali evocati vengono considerati solo come esami collaterali per la diagnosi.

Se i criteri sono soddisfatti e non ci sono migliori spiegazioni per la presentazione clinica, la diagnosi è di “SM”, mentre se c'è il sospetto, ma i criteri non sono pienamente rispettati, la diagnosi è di “*possibile SM*”.

In ogni caso di sospetta SM è necessario effettuare diagnosi differenziale con patologie quali: neurite ottica/neuropatia infiammatoria, neuromielite ottica, mielopatia ischemica o genetica, demielinizzazione infiammatoria idiopatica, postvirale, patologie reumatologiche, infettive, sarcoidosi, CADASIL; infatti se durante la valutazione emerge un'altra diagnosi che spiega meglio la presentazione clinica, la diagnosi è di “*non SM*”.

Criteri diagnostici di McDonald per la Sclerosi Multipla: revisione del 2010	
Presentazione Clinica	Dati aggiuntivi necessari per la diagnosi
≥ 2 attacchi; evidenza clinica obiettiva di ≥2 lesioni o di 1 lesione con evidenza attendibile di un precedente attacco	Nessuno
≥ 2 attacchi; evidenza clinica obiettiva di 1 lesione	Disseminazione spaziale, dimostrata da: ≥1 lesione in T2 in almeno 2 delle 4 regioni tipiche della SM (periventricolare, juxtacorticale, sottotentoriale, midollare); oppure aspettare un ulteriore attacco clinico indicante una diversa regione del SNC
1 attacco; evidenza clinica obiettiva di ≥2 lesioni	Disseminazione temporale, dimostrata da: contemporanea presenza in qualunque momento di lesioni asintomatiche sia assumentanti che non assumentanti Gd; oppure una nuova lesione in T2 e/o assumentante Gd alla RM di follow-up, indipendentemente dal momento di insorgenza rispetto ad una RM di riferimento; oppure aspettare un secondo attacco clinico
1 attacco; evidenza clinica obiettiva di 1 lesione (CIS)	Disseminazione spaziale e temporale, dimostrata da: ≥1 lesione in T2 in almeno 2 delle 4 regioni tipiche della SM (periventricolare, juxtacorticale, sottotentoriale, midollare); oppure aspettare un ulteriore attacco clinico indicante una diversa regione del SNC; contemporanea presenza in qualunque momento di lesioni asintomatiche assumentanti che non assumentanti Gd; oppure una nuova lesione in T2 e/o assumentante Gd alla RM di follow-up, indipendentemente dal momento di insorgenza rispetto ad una RM di riferimento; oppure aspettare un secondo attacco clinico
Progressione neurologica insidiosa suggestiva di SM (PPSM)	Un anno di progressione della malattia (determinata retrospettivamente o prospettivamente) più 2 su 3 dei seguenti criteri: 1. Evidenza di DIS cerebrale sulla base di ≥1 lesione in T2 in almeno 2 delle 4 regioni tipiche della SM (periventricolare, juxtacorticale, sottotentoriale, midollare); 2. Evidenza di DIS nel midollo spinale sulla base di ≥2 lesioni in T2 a livello midollare; 3. Liquor positivo (evidenza di bande oligoclonali e/o indice di IgG elevato)

Tab. 2 Criteri diagnostici per la Sclerosi Multipla⁹⁷

La malattia può essere suddivisa in base al decorso in fenotipi clinici e la prima classificazione del 1996⁹⁸ è stata revisionata nel 2013⁹⁹. In quest'ultima per la suddivisione in sottotipi vengono valutate sia l'attività di malattia (intesa come presenza di ricadute e/o nuove lesioni in T2 o captanti gadolinio alla RMN) che la progressione della disabilità (per cui al momento mancano criteri standardizzati di definizione, ma che deve essere valutata clinicamente con cadenza almeno annuale).

La CIS (*Clinically Isolated Syndrome*) rappresenta la prima presentazione clinica di malattia che mostra caratteristiche di demielinizzazione infiammatoria che potrebbero essere attribuibili alla SM, ma che non comprende i criteri di disseminazione nel tempo. La storia naturale della malattia e gli studi clinici con terapie di fondo hanno dimostrato come una CIS con lesioni alla RM comporti un alto rischio di soddisfare i criteri diagnostici ed oggi essa viene considerata come una condizione appartenente allo spettro fenotipico della SM.

Una situazione più complicata è quella della RIS (*Radiologically Isolated Syndrome*) dove si ha il riscontro accidentale di lesioni suggestive di demielinizzazione infiammatoria alla RM, in assenza di segni o sintomi. Al momento la RIS non viene considerata come appartenente allo spettro fenotipico della SM finché non si associa a evidenze cliniche di malattia demielinizante; si tratta, però, di una condizione che richiede un follow-up nel tempo.

Nella maggior parte dei casi la malattia presenta un decorso di tipo *relapsing-remitting* (RRSM) con riacutizzazioni, dal recupero più o meno completo, alternate a periodi di relativo benessere clinico. Con riacutizzazione o ricaduta si intende un disturbo neurologico soggettivamente riportato dal paziente e oggettivamente confermato alla valutazione clinica, della durata di almeno 24 ore in assenza di infezioni o di altre condizioni associate ad un aumento della temperatura corporea. Con la nuova revisione del 2013 è importante definire anche per le forme RR se vi è attività di malattia.

Le forme *secondariamente progressive* (SPSM) sono definite da una graduale declino della funzione neurologica dopo un iniziale decorso con ricadute e spesso le funzioni deficitarie coinvolgono le stesse aree interessate durante le riacutizzazioni. Questa progressione si verifica in circa il 40% dei pazienti dopo 20 anni dall'esordio¹⁰⁰ e spesso la fase di transizione da una forma di RRSM viene

riconosciuta solo in maniera retrospettiva¹⁰¹; non esistono infatti dati clinici, immunologici o di diagnostica per immagini che consentano di determinare il momento di trasformazione nella forma progressiva.

Le forme *primariamente progressive* (PPSM) sono caratterizzate, invece, da un progressivo declino neurologico fin dalla prime fasi di esordio della malattia, in assenza di attacchi. Per alcuni autori questa condizione rappresenta una forma non infiammatoria o almeno meno infiammatoria della SM¹⁰². I criteri per SM primariamente progressiva includono progressione clinica per almeno un anno più due dei seguenti criteri: riscontro di DIS nell'encefalo, DIS nel midollo spinale (almeno 2 lesioni in T2 nel midollo), bande oligoclonali positive o elevato index di IgG.

Non viene, invece, più considerata la forma progressiva/ recidivante che è oggi definita come *primariamente progressiva con attività* ed è caratterizzata da progressione dall'esordio con vere e proprie ricadute e recupero totale o parziale.

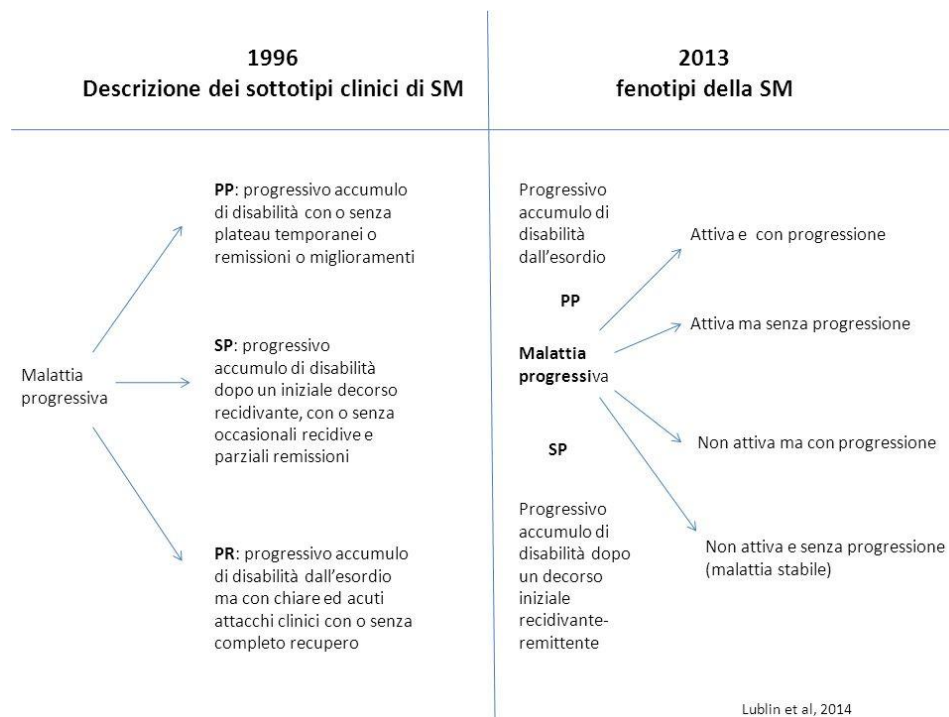


Fig. 3 Fenotipi progressivi di SM ⁹⁹

Per decidere nella maniera adeguata il tipo di terapia da intraprendere è importante valutare anche i fattori prognostici, in quanto soggetti di sesso maschile o con malattia aggressiva fin dall'inizio richiedono un trattamento più impegnativo.

Fattori prognostici	
Positivi	Negativi
Sesso femminile	Sesso maschile
Esordio recidivante-remittente	Esordio polisintomatico
Recupero completo	Recupero incompleto
Lungo intervallo fra gli attacchi	Breve intervallo tra gli attacchi
Bassa frequenza di attacchi nel decorso iniziale	Elevata frequenza di attacchi nel decorso iniziale
Lungo intervallo di tempo per raggiungere EDSS 3	Raggiungimento di EDSS 3 in breve tempo
Giovane età	Età avanzata

Tab. 3 Fattori prognostici della Sclerosi Multipla

Esistono poi delle varianti cliniche molto meno comuni della SM che si presentano con caratteristiche cliniche e radiologiche atipiche; queste includono la sclerosi concentrica di Balò e la malattia di Marburg. Il segno radiologico che le caratterizza è la presenza di lesioni di SM tumefattive: grandi più di 2 cm di diametro associate ad effetto massa, edema e ring-enhancement. Anche la clinica è peculiare con sintomi che dipendono dalla localizzazione delle lesioni ma che includono afasia, agnosia, crisi epilettiche, deficit del campo visivo, sintomi non tipicamente riscontrabili in CIS o SM¹⁰³. La malattia di Marburg e la sclerosi concentrica di Balò sono caratterizzate da una rapida e fulminante evoluzione clinica con prognosi infausta. La variante di Marburg è caratterizzata da segni radiologici di lesioni demielinizzanti tumefattive nella sostanza bianca profonda; dal punto di vista anatomopatologico le lesioni sono simili a quelle di SM ma sono più distruttive e hanno più infiltrati infiammatori. Invece i cambiamenti patologici della Sclerosi concentrica di Balò sono unici e consistono in alternate bande di tessuto normalmente mielinizzato e demielinizzato.

POSSIBILITÀ TERAPEUTICHE NELLA SCLEROSI MULTIPLA

Sebbene attualmente non esista una terapia in grado di curare la SM vi sono disponibili numerosi trattamenti per questa malattia che sono suddivisi in terapia dell'attacco, atta a ridurre l'infiammazione acuta, e terapia di fondo, deputata a ridurre frequenza e gravità delle ricadute limitando l'accumulo di disabilità.

Vi è infine la terapia sintomatica per alleviare i disturbi collaterali alla SM come spasticità, sintomi urogenitali, fatica, alterazioni del tono dell'umore e problemi cognitivi.

Se prima degli anni novanta la SM era trattata essenzialmente con corticosteroidi e potenti immunosoppressori (come Mitoxantrone, Ciclofosfamide e Azatioprina), ad oggi disponiamo di diverse terapie di modulazione e di soppressione immunitaria, che hanno dimostrato un impatto più favorevole sull'attività infiammatoria della malattia.

TERAPIA DELLA FASE ACUTA

La terapia della fase acuta è rappresentata essenzialmente dai **corticosteroidi**. Questi farmaci riducono la durata e la gravità della ricaduta di malattia ed accelerano i tempi di recupero, agendo positivamente sulla morbidità a breve termine. I farmaci utilizzati sono diversi, somministrati per via orale o parenterale, tipicamente “in boli”. La terapia in bolo consiste in infusione endovenosa di dosi elevate di steroide (1 g di metilprednisolone) in poche ore e la somministrazione si ripete giornalmente per un totale di 3-5 somministrazioni¹⁰⁴.

TERAPIA DI FONDO

Le terapie di fondo (“disease modifying therapies”) sono regolamentate dall'AIFA attraverso la nota 65 e prevedono farmaci di prima linea indicati fin dalla diagnosi (immunomodulanti e immunosoppressori di nuova generazione) e trattamenti di seconda linea (immunosoppressori veri e propri). I pazienti che presentano una ripresa dell'attività di malattia durante un trattamento di prima linea possono beneficiare di un passaggio a terapie con maggiore efficacia, mentre un passaggio tra le terapie di prima linea è accettato solo per ragioni di sicurezza e tollerabilità oppure in caso di presenza di anticorpi neutralizzanti.

I farmaci disponibili da circa due decenni sono terapie iniettabili e comprendono **Interferoni (INF) beta 1a** (AVONEX ® e REBIF ®) e **1b** (BETAFERON ®, EXTAVIA®) e il **Glatiramer acetato (GA)**, (COPAXONE ®); nell'agosto 2014 è stato, inoltre, approvato dall'FDA l'**Interferone beta 1a Pegilato** (PLEGRIDY ®) . Queste terapie sono utilizzate nel trattamento di prima linea delle forme di SM relapsing-remitting (SMRR), sebbene l'interferone beta 1-b sia approvato anche per le forme secondariamente progressive con malattia in fase attiva, evidenziata da recidive.

I meccanismi mediante i quali gli interferoni esercitano i loro effetti nella sclerosi multipla non sono ancora chiaramente definiti; essi sono proteine endogene coinvolte nella risposta immune contro agenti virali e batterici e presentano anche azione immunomodulante sulle azioni dei linfociti T e B, alterando l'espressione di citochine¹⁰⁵. Esistono varie formulazioni di interferoni beta che mostrano la medesima efficacia e, sebbene siano tutte iniettabili, differiscono per la frequenza di somministrazione. Sono attualmente disponibili:

- Avonex® (interferone beta-1a): iniezione intramuscolo settimanale (30 µg)
- Rebif® (interferone beta-1a): iniezione sottocutanea 3 volte/settimana (22 o 44 µg)
- Betaferon® (interferone beta-1b): iniezione sottocutanea a giorni alterni (250 µg)
- Extavia® (interferone beta-1b): iniezione sottocutanea a giorni alterni (250 µg)
- PlegriDY® (peginterferone beta-1a): iniezione sottocutanea ogni 2 settimane (125 µg)

Gli effetti collaterali dell'interferone sono la sindrome flu-like, leucopenia, anemia, aumento delle transaminasi, depressione, aumento di una preesistente spasticità e reazione al sito d'iniezione; sono stati, inoltre, descritti rari casi di microangiopatia trombotica e sindrome nefrosica. Una riduzione di efficacia di questi farmaci potrebbe, invece, derivare dalla formazione di anticorpi neutralizzanti per cui è indicato il passaggio ad altri farmaci di prima linea.

L'INF pegilato ha la stessa farmacodinamica dell'INF beta 1a, ma ha diverse proprietà farmacocinetiche a causa della pegilazione che ne aumenta l'emivita.

Il Glatiramer acetato o copolimero (20 mg/die) è un complesso di 4 aminoacidi che mimano la proteina basica della mielina (MBP), uno degli autoantigeni target per le cellule T. Esso dunque funziona come un bersaglio alternativo allo strato della

mielina per l'attacco delle cellule immunitarie, in più funziona in modo multifattoriale come un immunomodulante nel deviare l'attivazione dei T-helper dal tipo 1 (risposta infiammatoria immunomediata) al tipo 2 (risposta T-helper cellulare)¹⁰⁵. Il GA viene somministrato per via sottocutanea una volta al giorno e la sua efficacia è paragonabile a quella degli interferoni.

Gli effetti collaterali comprendono reazione al sito d'iniezione, reazioni post-iniezione (flushing, fame d'aria, palpitazioni a rapida e spontanea risoluzione) e raramente lipodistrofia con l'uso prolungato.

Nel febbraio 2014 è stato approvato dall'FDA il Glatiramer Acetato ad alto dosaggio che è ora disponibile anche in Italia e prevede un minor numero di somministrazioni (tre volte a settimana anziché giornalmente).

In vari studi non sono state rilevate differenze sostanziali tra i diversi immunomodulanti negli effetti sulle ricadute, che sono risultate ridotte di circa il 30% con tutti i trattamenti, mentre solo alcuni dei preparati di IFN hanno mostrato anche un beneficio significativo sulla progressione della disabilità.

Nel settembre 2012 è stato approvato dall'FDA un ulteriore trattamento orale per la SMRR, la **Teriflunomide** (14 mg/die, AUBAGIO®, disponibile in Italia da agosto 2014). Il farmaco va ad inibire la diidroorotato deidrogenasi, enzima responsabile della sintesi delle pirimidine, alterando la produzione di acidi nucleici necessaria per la proliferazione dei linfociti autoreattivi.

I risultati più importanti riguardo a questo farmaco sono quelli dello studio TOWER (Teriflunomide Oral in People with Relapsing-Remitting Multiple Sclerosis) dove si è riscontrata una riduzione dell'ARR del 22,3% per il 7 mg/die e del 36,3% per il 14 mg/die; per quest'ultimo dosaggio si è riscontrato anche una diminuzione della progressione della disabilità¹⁰⁶.

Nei vari studi clinici sono stati riportati i seguenti eventi avversi: cefalea, aumento di ALT, nausea, diarrea ed alopecia. La causa più comune di sospensione è stata l'incremento delle transaminasi per cui è raccomandato il monitoraggio degli enzimi epatici al basale, poi mensilmente per i primi 6 mesi e poi ogni 6 mesi. Altri eventi avversi meno frequenti includono neuropatia periferica, rash cutaneo ed ipertensione per cui sono richiesti controlli al basale e periodici dei valori pressori. Essendo un farmaco di recente introduzione mancano dati adeguati, riguardo agli effetti avversi

nel lungo periodo, sebbene nei primi trials non siano stati riportati tumori maligni o malattie linfoproliferative. La Teriflunomide ha, però, un effetto potenzialmente teratogeno per la sua attività di inibizione della sintesi degli acidi nucleici e andrebbe evitata nei pazienti in età fertile di entrambi i sessi, in quanto il farmaco è stato riscontrato anche nel liquido seminale. Ai pazienti andrebbe quindi fortemente raccomandata la contraccezione e in caso di una gravidanza deve essere effettuata una eliminazione accelerata del farmaco con colestiramina.

Nel marzo 2013 è stato approvato dall'FDA per i pazienti con SMRR il **Dimetilfumarato** (240 mg x 2/die, TECFIDERA ®, disponibile in Italia da gennaio 2015), noto anche come DMF o BG12; il meccanismo con cui tale farmaco esercita gli effetti terapeutici nella Sclerosi Multipla non è pienamente compreso, ma studi preclinici indicano che le risposte farmacodinamiche del dimetilfumarato risultano principalmente mediate attraverso l'attivazione della via di trascrizione del fattore nucleare Nrf2 (fattore nucleare 2 eritroide 2-correlato). Sulla base del suo meccanismo d'azione il DMF potrebbe avere proprietà neuroprotettive per i neuroni e potrebbe inoltre modulare la risposta immune.

Negli studi placebo/controllo di fase 3 il DMF ha ridotto in maniera significativa (di circa il 45%) l'ARR su un periodo di 2 anni e dimostrato un miglioramento significativo degli endpoint di RMN comparato a placebo¹⁰⁷.

Le reazioni avverse più comuni sono state il rossore (flushing) e gli eventi gastrointestinali (diarrea, nausea e dolore addominale) che tendono ad insorgere agli inizi della terapia (soprattutto durante il primo mese) e possono continuare a verificarsi in modo intermittente durante l'intero trattamento. Altre reazioni avverse comuni includono elevazione delle transaminasi e linfopenia per cui è raccomandato il controllo della formula leucocitaria prima dell'inizio del trattamento e poi annualmente. Essendosi verificati 4 casi di leucoencefalopatia multifocale progressiva (PML) in pazienti trattati con DMF, si raccomanda di considerare l'interruzione del medicinale in pazienti con conte linfocitarie al di sotto di $0,5 \times 10^9/L$ che persistano per più di 6 mesi (ovvero linfopenia severa e prolungata). Anche con questo farmaco di recente introduzione, mancano adeguati dati su eventuali eventi avversi a lungo termine.

Nel 2006 è stato approvato **Natalizumab** (300 mg e.v. ogni 4 settimane, TYSABRI®) in Europa per pazienti adulti con SM-RR con alta attività di malattia nonostante terapia con INF beta o GA oppure che presentano una malattia rapidamente evolutiva. Natalizumab è un anticorpo monoclonale che si lega all'integrina alfa 4 beta 1 ($\alpha 4\beta 1$), componente principale delle molecole di adesione sulle cellule immuni e così facendo interferisce con la tras migrazione di queste cellule nel SNC¹⁰⁸. Il blocco delle interazioni molecolari di $\alpha 4\beta 1$ con i suoi bersagli riduce l'attività infiammatoria presente a livello cerebrale nei pazienti con SM ed inibisce un ulteriore reclutamento di cellule del sistema immunitario e la loro migrazione verso il tessuto infiammato, riducendo in tal modo la formazione o l'estensione delle lesioni.

Nello studio AFFIRM (Natalizumab Safety and Efficacy in Relapsing–Remitting Multiple Sclerosis) Natalizumab ha ridotto significativamente il tasso di ricadute, la progressione di disabilità a 3 e 6 mesi, il numero di lesioni GDp in T1 e la comparsa di nuove lesioni in T2 alla RMN¹⁰⁹. Invece lo studio SENTINEL ha messo in evidenza come Natalizumab in associazione con INF beta1a intramuscolo risultava in una maggiore riduzione dell'ARR rispetto al solo INF¹¹⁰.

I dati preliminari a 5 anni dello studio TOP (TYSABRI Observational Program), della durata complessiva di 10 anni, hanno confermato l'importante effetto di Natalizumab su ARR e progressione di disabilità nel post-marketing¹¹¹. Un grande numero di studi osservazionali ha provato l'effetto benefico di Natalizumab nei pazienti con risposta subottimale a INF beta o GA^{112,113,114}) suggerendo che Natalizumab è una valida opzione di switch.

Per quanto riguarda la sicurezza la problematica principale riguarda il rischio di PML (leucoencefalopatia multifocale progressiva); i fattori di rischio per lo sviluppo di tale complicanza sono: la positività degli anticorpi anti-JCV (John Cunningham virus), la precedente esposizione ad immunosoppressori e la prolungata esposizione a Natalizumab (maggiore di 24 mesi)¹¹⁵. Si raccomanda, dunque, di eseguire il test per gli anticorpi anti-JCV nel siero prima di iniziare la terapia o in pazienti che ricevono il medicinale che non sono stati testati per la presenza degli anticorpi. Nei pazienti trattati con Natalizumab che sono positivi agli anticorpi anti-JCV e che non hanno ricevuto in precedenza una terapia immunosoppressiva, il livello di risposta

anticorpale anti-JCV (index) è associato al livello di rischio di PML. I pazienti negativi per gli anticorpi anti-JCV possono essere ancora a rischio di PML per ragioni quali una nuova infezione da JCV, fluttuazione dello stato anticorpale o un risultato falso-negativo del test; si raccomanda, quindi, di ripetere il test ogni 6 mesi nei pazienti negativi per gli anticorpi anti-JCV e anche nei pazienti con index basso e che non hanno ricevuto in precedenza una terapia immunosoppressiva una volta raggiunti i 2 anni di trattamento. Sono, inoltre, consigliate frequenti RMN ripetute almeno su base annuale; si deve considerare di eseguire esami di RM più frequenti (es. ogni 3-6 mesi) mediante protocollo abbreviato nei pazienti a maggior rischio di sviluppare la PML per riconoscere segni precoci e subclinici di PML che possano essere associati ad un outcome migliore¹¹⁶. Nei pazienti considerati ad alto rischio, il trattamento va dunque proseguito solo nel caso in cui i benefici superino i rischi.

Altri eventi avversi riportati sono stati capogiri, nausea, orticaria e reazioni legate all'infusione; più raramente sono stati descritti infezioni opportunistiche e non, innalzamento degli enzimi epatici e iperbilirubinemia e anemia.

In studi clinici controllati della durata di 2 anni, in pazienti con SM, sono stati rilevati anticorpi anti-natalizumab nel 10% dei pazienti; la persistenza degli anticorpi è stata associata ad una sostanziale diminuzione d'efficacia del farmaco con aumento dell'incidenza di reazioni di ipersensibilità.

Alcuni studi hanno dimostrato come una precoce sospensione di Natalizumab possa associarsi ad un rebound dell'attività di malattia che complica la gestione di un paziente che sospende questo farmaco¹¹⁷; questo tuttavia è un dato controverso perché non è stato confermato in altri studi i quali riportano solo un ritorno all'attività di malattia preesistente¹¹⁸.

Nel settembre 2010 poi è stato approvato dall'FDA il primo trattamento orale per l'SMRR: **Fingolimod** (0,5 mg), (GILENYA ® disponibile in Italia da ottobre 2011) che agisce come antagonista funzionale del recettore per la sfingosina-1-fosfato (S1P) ed inibisce la capacità dei linfociti stessi di fuoriuscire dai linfonodi, determinando una loro riduzione nella circolazione periferica. Studi sull'animale hanno dimostrato che questa redistribuzione riduce l'infiltrazione dei linfociti patogeni, comprese le cellule pro-infiammatorie T_H17, nel SNC. Gli studi preclinici

indicano che il farmaco può agire anche mediante l'interazione con i recettori S1P espressi sulle cellule del sistema nervoso centrale¹¹⁹.

Fingolimod non agisce, però, sui linfociti T effettori della memoria, fondamentali per la sorveglianza immunitaria, ma solo sui linfociti T e B che migrano attraverso gli organi linfoidi. Esso conferisce una linfopenia temporanea, in quanto nei giorni successivi all'interruzione del farmaco si osserva un aumento del numero dei linfociti periferici fino al graduale ritorno a valori normali.

In Europa questo farmaco è stato approvato per pazienti con SM-RR che mostrano un'alta attività di malattia, nonostante terapia con almeno un farmaco disease-modifying (DMT) o che hanno una SM rapidamente evolutiva.

Negli studi FREEDOMS (FTY720 Research Evaluating Effects of Daily Oral therapy in Multiple Sclerosis) e TRANSFORMS (Trial Assessing Injectable Interferon versus FTY720 Oral in Relapsing–Remitting Multiple Sclerosis) è stato evidenziato come Fingolimod 0,5 mg/die avesse un più basso tasso annualizzato di ricadute (ARR) a 12 mesi rispetto al placebo e rispetto a INF beta1a; in particolare l'ARR si è ridotta del 73,4% comparato con INF beta 1a e del 67,4% se comparato al placebo. Inoltre è stato riscontrato un miglioramento del quadro di RMN in termini di numero, volume e captazione di gadolinio da parte delle lesioni¹²⁰.

Gli studi postmarketing hanno confermato i risultati positivi: i dati ottenuti dal Registro MS-Base (Multiple Sclerosis Database) hanno evidenziato la riduzione significativa dell'ARR e migliori outcome di disabilità se i pazienti passavano a Fingolimod piuttosto che ad un altro DMT iniettabile¹²¹.

Gli eventi avversi più comunemente riportati sono in parte dovuti all'azione del farmaco su tutti i cinque sottotipi di recettore S1P; essi comprendono: bradicardia, disturbi della conduzione atrio-ventricolare, ipertensione, ridotta conta linfocitaria periferica, incremento delle transaminasi, edema maculare retinico, carcinoma basocellulare e infezioni.

L'inizio del trattamento con Fingolimod comporta una diminuzione transitoria della frequenza cardiaca e può anche essere associato a ritardi nella conduzione atrioventricolare, compresi isolati episodi di blocco atrio-ventricolare completo, transitorio e a risoluzione spontanea. Dopo la somministrazione della prima dose, la diminuzione della frequenza cardiaca inizia entro un'ora ed è massima entro le prime

6 ore. Nei giorni seguenti questo effetto post-dose persiste, benchè generalmente di minore intensità, e solitamente diminuisce nel corso delle settimane seguenti fino alla normalizzazione a seguito dell'internalizzazione/desensibilizzazione del recettore S1P1. Tutti i pazienti devono effettuare un elettrocardiogramma e la misurazione della pressione arteriosa prima della somministrazione della prima dose di Fingolimod e dopo 6 ore; devono essere, inoltre, monitorati per 6 ore per verificare l'insorgenza di segni e sintomi di bradicardia, con la misurazione ad ogni ora della frequenza cardiaca e della pressione arteriosa e monitoraggio elettrocardiografico continuo (in tempo reale).

A causa del rischio di gravi disturbi del ritmo, il farmaco non deve essere utilizzato in pazienti con: blocco atrio-ventricolare di secondo grado tipo Mobitz II o di grado superiore, sindrome del nodo del seno o con blocco seno-atriale, storia di bradicardia sintomatica o sincope ricorrente, significativo prolungamento del tratto QT, cardiopatia ischemica (compresa angina pectoris), malattia cerebrovascolare, storia di infarto del miocardio, insufficienza cardiaca congestizia, storia di arresto cardiaco, ipertensione non controllata o severa apnea notturna.

Nuovi studi più recenti, che includevano anche pazienti con elementi di rischio cardiologico (concomitante di beta-bloccanti, bradicardia a riposo, BAV di secondo grado tipo Mobitz 1, bradicardia sintomatica ricorrente, positività al tilt test, diabete compensato o asma cronico) hanno dato risultati comparabili a quelli degli studi registrativi sulla tollerabilità cardiovascolare di Fingolimod. L'uso concomitante di betabloccanti o calcio-antagonisti ha, però, comportato una lieve maggiore incidenza di bradicardia con una riduzione media della frequenza cardiaca simile a quella rilevata negli altri pazienti¹²².

Per il rischio di herpes zoster le persone che non hanno storia di varicella o non sono vaccinate devono dosare gli anticorpi anti-VZV ed eventualmente effettuare il vaccino, post-ponendo l'inizio della terapia di almeno un mese.

Sono stati riportati, inoltre, riportati tre casi di PML in pazienti in terapia con Fingolimod senza precedente esposizione a Natalizumab, tuttavia la relazione causale tra Fingolimod e il verificarsi di PML in questi pazienti rimane al momento di incerta interpretazione.

Durante il trattamento con Fingolimod il paziente deve quindi eseguire controlli periodici della funzionalità epatica e della formula leucocitaria, valutazione oftalmologica dopo 3-4 mesi dall'inizio del trattamento e visite dermatologiche sia prima dell'inizio della terapia che annualmente.

Nel novembre 2014 è stato approvato dall'FDA **Alemtuzumab** (LEMTRADA ®, disponibile in Italia con rimborsabilità da aprile 2015), anticorpo monoclonale umanizzato che si lega a CD52, un antigene superficiale delle cellule presente in alte concentrazioni sui linfociti T e B e in concentrazioni più basse su cellule natural killer, monociti e macrofagi. Esso agisce sulle cellule linfocitarie mediante citolisi anticorpo-dipendente e lisi mediata da complemento. Il meccanismo mediante il quale il farmaco esercita il suo effetto terapeutico sulla SM non è ancora completamente chiaro, ma la deplezione e il ripopolamento dei linfociti hanno vari effetti immunomodulatori.

La dose standard è 12 mg/die per 5 giorni consecutivi, seguita 12 mesi dopo da 12 mg/die per 3 giorni consecutivi. Alemtuzumab è stato indicato come trattamento di prima linea in pazienti con SM ad alta attività di malattia, ma viene più comunemente utilizzato come terapia di seconda o terza linea a seguito degli importanti effetti avversi e dello stretto controllo necessario. Negli studi approvativi si è avuta una riduzione dell'ARR tra il 47 e il 55% rispetto all'INF beta 1 a¹²³.

Le reazioni avverse più comuni con sono eruzione cutanea, cefalea, piressia ed infezioni delle vie aeree. Quelle più importanti, invece, sono autoimmunità (porpora trombocitopenica idiopatica, patologie della tiroide, nefropatie, citopenie), reazioni da infusione e infezioni maggiori. Le reazioni da infusione possono includere cefalea, eruzione cutanea, piressia, nausea, orticaria, prurito, insonnia, brividi, rossore, affaticamento, dispnea, disgeusia, fastidio al torace, eruzione cutanea generalizzata, tachicardia, dispepsia, capogiro e dolore; nel 3% dei pazienti si sono verificate reazioni gravi con casi di piressia, orticaria, fibrillazione atriale, nausea, fastidio al torace e ipotensione. Si raccomanda, quindi, che i pazienti siano premedicati con corticosteroidi nei 3 giorni precedenti ciascun ciclo di trattamento; in aggiunta è da prendere in considerazione l'uso di antistaminici e antipiretici. Andrebbe eseguita anche una profilassi antivirale durante il trattamento e per almeno due mesi dopo il completamento del ciclo.

Tra i farmaci di prossima approvazione vi sono altri 3 anticorpi monoclonali: Daclizumab, Ocrelizumab e Rituximab. Il Daclizumab è un anticorpo monoclonale ricombinante umanizzato che blocca la subunità alfa del recettore dell'IL2 ad alta affinità (CD25), molecola di transmembrana espressa sulla superficie delle cellule T attivate di cui blocca l'espansione. Daclizumab inoltre causa l'espansione delle cellule NK CD56, che inibiscono la sopravvivenza delle cellule T CD4+ attivate. L'Ocrelizumab è un'immunoglobulina umanizzata anti CD20 espressa sui linfociti B di cui comporta deplezione. Il Rituximab invece è un anticorpo monoclonale umano/murino chimerico che va anch'esso a legare il CD20 espresso sui linfociti B. Tra gli orali ancora in studio vi è, invece, Laquinimod che agisce interferendo con il traffico cellulare nel SNC (riducendo la responsività del VLA-4 alle chemochine prodotte dai linfociti T e dalle cellule endoteliali nel SNC infiammato) e modulando la risposta immune infiammatoria (shifta il profilo di citochine verso un profilo T_H2 e sopprime la presentazione dell'antigene da parte delle molecole MHC di classe II); può avere inoltre effetti neuro protettivi.

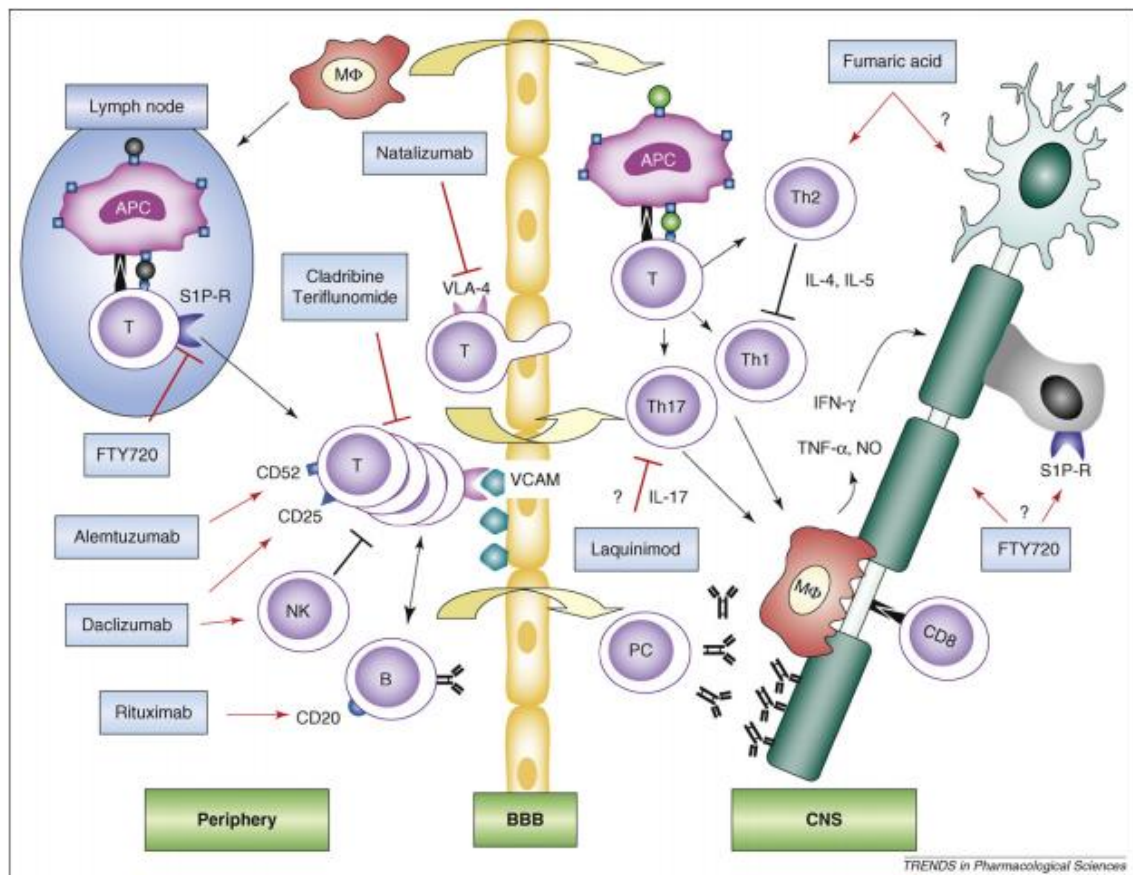


Fig. 4 Bersagli molecolari dei trattamenti per SM (Linker et al 2008¹²⁴)

RISCHIO DI PML

La leucoencefalopatia multifocale progressiva (PML) è una rara patologia demielinizzante causata dal poliomavirus ubiquitario JC (John Cunningham). Tale malattia è quasi sempre associata a sottostanti condizioni di immunosoppressione; sebbene l'AIDS sia considerata il principale fattore predisponente, sono coinvolte anche neoplasie ematologiche, tumori solidi, disordini autoimmuni e granulomatosi. Solo recentemente si è dimostrato come che numerosi farmaci possano aumentare il rischio di PML ed è stata dimostrata l'associazione con terapia a base di Natalizumab, Rituximab, Micofenolato Mofetile, Brentuximab Vedotin ed Efalizumab (ad oggi non più utilizzato). Bisogna, però, tener presente che il rischio di PML deve essere considerato per ogni terapia che alteri le funzioni immunitarie¹²⁵. Il meccanismo di diffusione del virus rimane ad oggi indeterminato, sebbene sia spesso riscontrato nel tratto urinario di individui sani ed immunocompromessi; quando lo si riscontra in sangue e liquor di pazienti con PML ha, però, una forma mutata con inserzioni e duplicazioni. L'ipotesi attualmente più accettata è che la PML avvenga come conseguenza di una riattivazione del virus JC latente nei reni, portando ad una viremia e alla conseguente invasione del SNC. Questo però è un aspetto controverso poiché in alcuni individui sani è stato riscontrato il JCV nell'encefalo così come in individui con PML non è stata riscontrata alcuna viremia¹²⁶. Il virus JC provoca, inoltre, neuronopatia delle cellule granulari (JCV granule cell neuronopathy), che è stata riportata in pazienti trattati con Natalizumab e presenta sintomi simili a quelli di PML.

Il rischio di PML è sicuramente aumentato nei pazienti in terapia con Natalizumab, tuttavia recentemente sono stati riportati tre casi di PML in pazienti trattati con Fingolimod e in quattro pazienti trattati con DMF, senza storia di precedente esposizione a Natalizumab. L'aumentata incidenza di PML nei pazienti trattati con Natalizumab sembra in parte essere spiegata dal meccanismo d'azione a cui consegue una riduzione dell'immunosorveglianza nel SNC, mentre per Fingolimod e DMF la farmacodinamica non sembra giustificare l'aumento del rischio. A questo punto è importante capire se i dati appena esposti definiscano o meno un rischio significativamente aumentato e correlato con l'esposizione prolungata nel tempo anche con questi due farmaci.

La prevalenza sierologica di anticorpi contro virus JC nella popolazione adulta di malati di SM varia nei differenti studi, ma è stata ampiamente accettata come maggiore del 50%¹²⁷. La presenza di tali anticorpi è un fattore di rischio per lo sviluppo di PML che recentemente viene ulteriormente stratificato mediante il calcolo dell'index (livello anticorpale).

Un index maggiore a 1,5 indica positività con un rischio di 1 su 1000 di sviluppo di PML, mentre un valore inferiore attesta un rischio di 0,1 su 1000. Il rischio aumenta se i pazienti hanno una lunga durata di trattamento con un picco oltre i 24 mesi di 5 per 1000. Se poi si ha una storia precedente di esposizione a immunosoppressori il rischio arriva a 11 su 1000 (JCV positivi con esposizione tra 25 e 48 mesi).

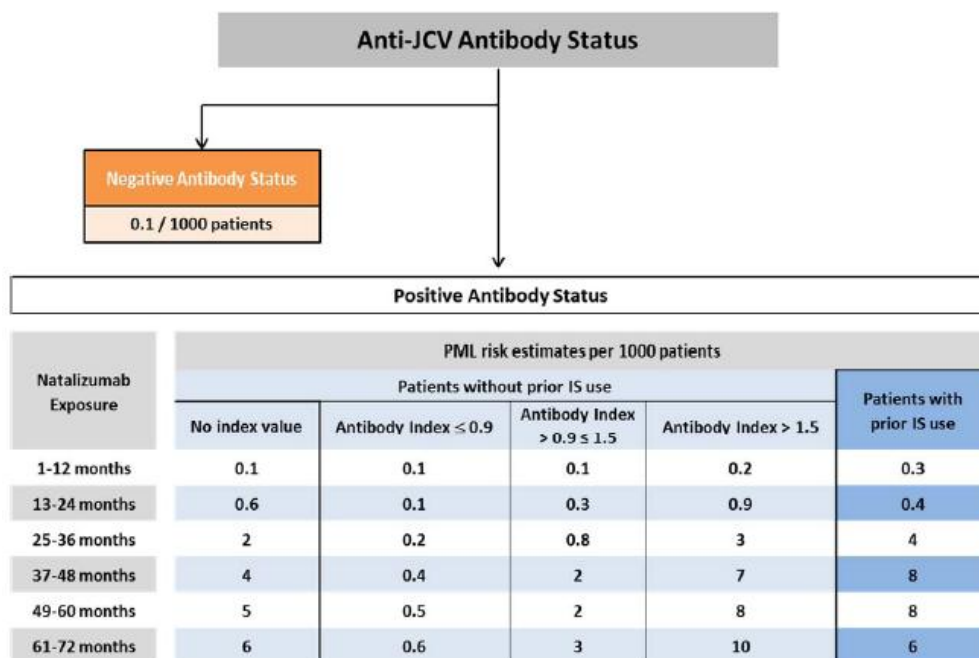


Fig. 5 Stratificazione del Rischio di PML. (Linee guida Tysabri , marzo 2016¹²⁸)

È stata riportata, inoltre, l'insorgenza di PML dopo la sospensione di Natalizumab in pazienti che non presentavano segni indicativi di tale patologia al momento della sospensione; dunque all'incirca per i 6 mesi successivi alla sospensione del trattamento deve essere mantenuto un protocollo di monitoraggio.

Riassumendo gli organi di farmacovigilanza hanno concluso che i pazienti con un indice anticorpale elevato, che non hanno utilizzato immunosoppressori prima di Natalizumab e sono stati trattati con tale farmaco per più di 2 anni sono considerati a più alto rischio di PML; in tali pazienti, il trattamento deve essere continuato solo se

i benefici superano i rischi. Per i pazienti che hanno un basso indice di anticorpi e non hanno utilizzato farmaci immunosoppressori prima di iniziare Natalizumab, si raccomanda di ripetere il test degli anticorpi ogni 6 mesi una volta che hanno superato i due anni di trattamento. Nei pazienti che, invece, sono risultati negativi per gli anticorpi del virus JC, il test degli anticorpi deve essere ripetuto ogni 6 mesi.

La presentazione clinica della PML è eterogenea e può includere deficit neurologici focali o non focali che riguardano il comportamento, la sfera motoria, il linguaggio, le funzioni visive e soprattutto la componente cognitiva. I sintomi precoci sono subdoli e possono mimare una riacutizzazione di sclerosi multipla, mentre quelli tardivi possono essere diagnosticati erroneamente come ictus o crisi epilettiche. Si deve, quindi, considerare la PML come diagnosi differenziale in qualsiasi paziente con sclerosi multipla in terapia con Natalizumab che manifesti sintomi neurologici e/o nuove lesioni cerebrali alla RM; sono stati, inoltre, riportati casi di PML asintomatica sulla base della RM e presenza nel liquido cerebrospinale di DNA per JCV.

La diagnosi si pone combinando la clinica con il riscontro di segni tipici alla RMN e presenza del DNA del JCV nel liquor dei pazienti (la PCR per il DNA del JCV ha sensibilità 80% e specificità 90%, dunque una negatività del liquor non esclude la diagnosi poiché la carica virale può essere bassa). La RMN resta lo strumento più utile per la diagnosi: la PML si manifesta come una o più iperintensità in T2/Flair nella sostanza bianca con distribuzione periferica, bilaterale ma asimmetrica; le lesioni variano di forma, dimensioni e si accrescono fino a divenire confluenti quando la malattia progredisce. Il coinvolgimento della corteccia è presente in circa l'83% dei casi; a livello sopratentoriale riguarda principalmente i lobi parietali, occipitali, frontali e può infiltrare il corpo calloso. Frequentemente c'è coinvolgimento della fossa posteriore, in particolare del cervelletto e dei peduncoli cerebellari medi.

Una volta diagnosticata la malattia l'unica cosa che si può fare è sospendere il trattamento; vi sono poi controversie riguardo l'uso di plasmaferesi per rimuovere rapidamente il farmaco dall'organismo, infatti alcuni sostengono che la plasmaferesi sia in grado di accelerare il verificarsi della Sindrome da Immunoricostruzione (IRIS) che sembra derivare dal ripristino della funzione immunitaria nei pazienti con

PML; tale condizione può provocare gravi complicanze neurologiche e risultare fatale. Deve essere, dunque, condotto un attento monitoraggio per individuare l'insorgenza di IRIS, che in genere si manifesta da pochi giorni a varie settimane dopo la plasmaferesi e richiede l'utilizzo di corticosteroidi.

La mortalità per PML in Natalizumab si attesta intorno al 22%, significativamente inferiore rispetto alla mortalità per PML nei pazienti HIV positivi (40-50%), ma coloro che sopravvivono riportano disabilità significative nel 90% dei casi.

LA STRATEGIA TERAPEUTICA

Ci sono ormai molte “disease-modifying therapies” (DMT) utilizzabili per la trattamento della SM e suddivise in farmaci di prima linea (Interferone beta, Glatiramer Acetato, Teriflunomide e Dimetilfumarato) e seconda linea (Fingolimod, Natalizumab, Mitoxantrone ed Alemtuzumab). Essi differiscono sia per efficacia che per tollerabilità e sicurezza ed è fondamentale che il medico imposti il trattamento più adeguato per il paziente in base al rapporto rischio e beneficio.

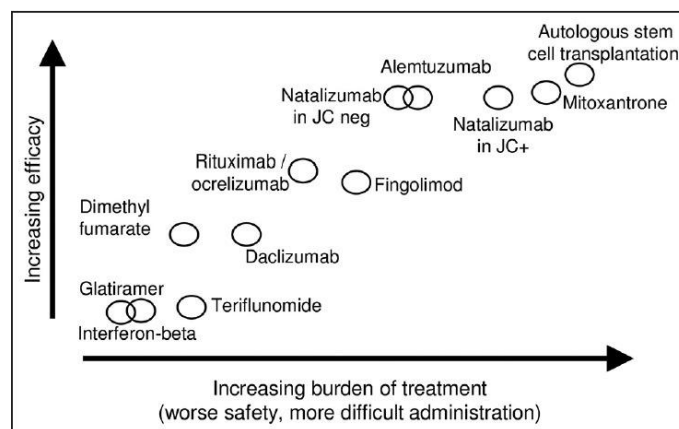


Fig. 6 Classificazione terapie della SM in base ad efficacia e sicurezza (Coles et al 2015 ¹²⁹)

Per evitare un overtreatment è importante iniziare una DMT nei pazienti con SM che presentano la più alta probabilità di avere una risposta ottimale alla terapia, prendendo decisioni basate su multipli fattori che includono evidenze di efficacia e sicurezza dei farmaci, decorso e attività della malattia, aderenza prevista e preferenze individuali.

Fattori clinici che influenzano la decisione di iniziare una disease-modifying therapy for SM	
<i>Fattori che suggeriscono di non iniziare una DMT</i>	<ul style="list-style-type: none"> • CIS con fattori prognostici positivi • RR-SM senza ricadute nei precedenti due anni, senza disabilità e in assenza di evidenze di attività malattia alla RMN (forme potenzialmente “benigne”) • Forme progressive di SM senza ricadute o evidenze di attività di malattia alla RMN • Programmazione di gravidanza • Alto di rischio di bassa aderenza alla terapia
<i>Fattori che suggeriscono di iniziare una DMT di prima linea</i>	<ul style="list-style-type: none"> • CIS con fattori prognostici negativi • RR-SM con almeno una ricaduta nei precedenti due anni, ma meno di due ricadute nell’ultimo anno, bassa disabilità residua e/o attività di malattia alla RMN
<i>Fattori che suggeriscono di iniziare una DMT di seconda linea</i>	<ul style="list-style-type: none"> • RR-SM con almeno due ricadute con disabilità residua nell’ultimo anno • Forme progressive di SM con ricadute e/o attività di malattia alla RMN

Tab. 4 Fattori che influenzano la decisione di intraprendere una terapia per SM
(Gajofatto et al 2015 ¹³⁰)

Le evidenze e le linee guida sui criteri e le tempistiche per cambiare un DMT nella SM sono limitate e le scelte dei clinici sulla questione sono spesso basate su reports osservazionali e guidati dalla buona pratica clinica (ved Tab. 4). Infatti, i pazienti con SM che iniziano una terapia specifica la cambiano in una proporzione che varia dal 30% all’80% per varie ragioni, di cui le principali sono l’evidenza di una risposta subottimale o inefficace (fallimento terapeutico).

Nella valutazione possono essere utilizzati strumenti come il RIO SCORE che combina parametri clinici, di risonanza magnetica e disabilità; se c’è un peggioramento in due di essi si è giustificati al cambiamento della terapia¹³¹.

In questa ottica sta emergendo l’idea di raggiungere l’obiettivo di “nessuna attività di malattia” (NEDA), dove non ci sono evidenze di peggioramento clinico, attività radiologica e progressione della disabilità (NEDA 3) o dell’atrofia (NEDA 4).

Nella decisione terapeutica si possono adottare due strategie: “Escalation Strategy” o “Induction Strategy”. La prima è quella più frequentemente utilizzata e prevede l’inizio con farmaci a bassa efficacia e basso rischio per poi passare gradualmente a trattamenti sempre più efficaci, ma gravati da maggiori effetti avversi. Il secondo approccio viene utilizzato in pazienti con maggiore aggressività di malattia per cui si comincia direttamente con farmaci più potenti ed efficaci, ma molto più rischiosi.

Fattori che influenzano la decisione di cambiare l'attuale disease-modifying therapy per SM	
<i>Fattori che suggeriscono di passare da una DMT di prima linea ad un'altra</i>	<ul style="list-style-type: none"> • Questioni di tollerabilità/sicurezza • Efficacia sub ottimale con attività di malattia non idonea ad una escalation verso una terapia di seconda linea • Pazienti in trattamento con interferone beta con un persistente alto titolo di anticorpi neutralizzanti
<i>Fattori che suggeriscono di passare da una DMT di prima linea ad una di seconda</i>	<ul style="list-style-type: none"> • Pazienti con RR-SM con almeno una ricaduta e con attività di malattia alla RMN durante l'anno precedente • Pazienti con RR-SM in transizione verso una forma secondariamente progressiva con evidenza di ricadute o di attività di malattia alla RMN
<i>Fattori che suggeriscono di passare da una DMT di seconda linea ad un'altra</i>	<ul style="list-style-type: none"> • Pazienti con RR-SM che presentano ancora ricadute • Forme progressive di SN con ricadute e/o attività di malattia nonostante il trattamento • Questioni di sicurezze (es. aumentato rischio di PML)
<i>Farmaci che suggeriscono di passare da una DMT di seconda ad una di prima linea</i>	<ul style="list-style-type: none"> • Questioni di tollerabilità/sicurezza • Rischio percepito dal paziente

Tab.5 Fattori che indirizzano verso un cambiamento di strategia terapeutica (Gajofatto et al 2015 ¹³⁰)

IMMUNOSOPPRESSIONE NELLA SCLEROSI MULTIPLA: VALUTAZIONE LONGITUDINALE DELLA RISPOSTA TERAPEUTICA.

STUDIO CLINICO

RAZIONALE DELLO STUDIO

L'obiettivo di questo studio osservazionale è quello di confrontare due gruppi di pazienti con SM-RR trattati con i farmaci immunosoppressori Natalizumab e Fingolimod presso gli ambulatori per malattie demielinizzanti di due centri clinici, andando a comparare le caratteristiche al basale, la risposta terapeutica, la sicurezza e la tollerabilità.

MATERIALI E METODI

Nello studio sono stati inclusi pazienti con SMRR afferenti all'ambulatorio per le malattie demielinizzanti della Clinica Neurologica dell'AOUP e dell'ASL N°5 "Spezzino" trattati con Tysabri® o Gilenya®.

Natalizumab è stato disponibile nei due centri a partire dal giugno 2008, mentre Fingolimod è stato impiegato nell'AOUP a partire da giugno 2011 nell'ambito di studi clinici e prescritto poi in entrambi i centri dall'aprile 2012. I dati sono stati raccolti fino a giugno 2016 considerando i pazienti che avevano intrapreso Natalizumab o Fingolimod tra giugno 2008 e gennaio 2016.

In accordo con i criteri di prescrivibilità posti dall'AIFA per questi due farmaci i criteri di inclusione erano avere diagnosi di Sclerosi Multipla in base alla revisione del 2010 dei criteri di McDonald⁹⁷, decorso di malattia relapsing-remitting (SM-RR), fallimento della terapia di prima linea (per inefficacia o eventi avversi) o elevata attività di malattia per i pazienti naive. Sono stati esclusi dallo studio i soggetti con età inferiore a 18 anni e sottoposti ad un precedente trattamento con Fingolimod o Natalizumab.

La scelta dell'uno o dell'altro farmaco, una volta disponibili entrambi, è stata effettuata dai neurologi curanti sulla base delle caratteristiche di malattia, sulla presenza o meno degli anticorpi anti-JCV e sulla preferenza del singolo paziente.

Le variabili cliniche e demografiche sono state registrate in cartelle cliniche e su files elettronici (registri per Tysabri® e Gilenya® e database iMED) e raccolte

retrospettivamente. Al baseline sono state analizzate le seguenti variabili: genere, età, durata di malattia, numero di farmaci DMT (disease modifying treatment) utilizzati, numero di ricadute nell'anno precedente al passaggio a seconda linea, EDSS score valutato nel mese precedente, numero di nuove lesioni in RMN nelle sequenze T2 e lesioni Gadolinio positive (Gdp) nell'anno precedente al passaggio a seconda linea.

L'efficacia di entrambi i farmaci è stata valutata considerando il numero di ricadute nel primo anno e nell'intero periodo di trattamento, l'annualized relapse rate (tasso di ricadute per anno di trattamento, ARR), l'EDSS score ogni sei mesi, il numero di nuove lesioni nel primo anno, il numero di nuove lesioni in T2 e lesioni captanti gadolinio (Gdp) in tutto il periodo di trattamento.

I dati di RMN sono stati raccolti al basale e circa ogni sei mesi per i pazienti in terapia con Natalizumab e annualmente per quelli in trattamento con Fingolimod, utilizzando un macchinario a 1,5 tesla; l'attività radiologica durante il trattamento è stata valutata attraverso la comparsa di lesioni nelle sequenze T2 e/o in FLAIR o captanti gadolinio non presenti nella RMN basale.

Per ricaduta si è considerato un disturbo neurologico soggettivamente riportato dal paziente e oggettivamente confermato alla valutazione clinica, della durata di almeno 24 ore in assenza di infezioni o di altre condizioni associate ad un aumento della temperatura corporea.

Per quanto riguarda la sicurezza il rischio infettivo è stata valutato attraverso la conta dei globuli bianchi e la formula leucocitaria al basale e ogni sei mesi, considerando come normale range per i leucociti $4,50-10 \times 10^3/\text{uL}$, per i linfociti $0,9-5 \times 10^3/\text{uL}$, per i neutrofili $1,8-7,5 \times 10^3/\text{uL}$, per i monociti $0,1-1,0 \times 10^3/\text{uL}$, per i basofili $0-0,1 \times 10^3/\text{uL}$ e per gli eosinofili $0-0,7 \times 10^3/\text{uL}$. E' stata poi valutata l'incidenza di episodi infettivi (opportunistici e non) calcolata come numero di infezioni per gruppo di trattamento diviso per il tempo cumulativo di esposizione in mesi in ciascun gruppo; la proporzione di pazienti con infezioni è stata poi categorizzata in base alla media dei linfociti.

Per il rischio cardiovascolare di Fingolimod sono stati valutati inoltre i valori di pressione arteriosa (PA) e di frequenza cardiaca nelle sei ore di monitoraggio previste dall'AIFA alla prima somministrazione e l'eventuale riscontro di ipertensione arteriosa nei mesi a seguire.

ANALISI STATISTICA

Le variabili quantitative sono state riportate come media \pm deviazione standard. Per la comparazione tra i due gruppi per le variabili parametriche distribuite normalmente è stato utilizzato il test ANOVA, mentre per le variabili che non sono distribuite normalmente è stato applicato il test di Mann-Whitney. Per le variabili categoriche sono stati applicati il test di Fisher e il χ^2 . La formula leucocitaria e i dati di sicurezza sono stati riassunti solo mediante statistica descrittiva. La progressione della disabilità è stata definita come l'incremento di ≥ 0.5 punti all'EDSS confermato a sei mesi. L'attività all'RMN è stata definita come la presenza di ≥ 1 nuove lesioni in T2 o in T1 Gdp alle RMN di follow-up. La significatività statistica è stata fissata ad un alfa <0.05 (a due code). Le analisi sono state effettuate utilizzando SPSS.

RISULTATI

A partire da giugno 2008 sono stati trattati 25 pazienti con Natalizumab (15 nell'AOUP e 10 nell'ASL N° 5 Spezzino) e 64 pazienti con Fingolimod (53 nel centro pisano e 11 in quello spezzino).

Otto pazienti in terapia con Natalizumab hanno sospeso il trattamento: cinque pazienti JCV positivi hanno interrotto la terapia per l'incremento del rischio di PML, una a seguito di insorgenza di PML dopo 4 anni dall'inizio, una per progressione della malattia nonostante la terapia ed una per intraprendere una gravidanza. Quattro pazienti in terapia con Fingolimod hanno interrotto il trattamento: due a seguito di eccessivo rialzo delle transaminasi, una per marcata linfopenia e una per sottoporsi a cure sperimentali.

Nei 25 pazienti in terapia con Natalizumab l'ultimo DMT utilizzato era IFN beta 1a in 14 pazienti (56%), IFN 1b in 5 pazienti (20%), GA in 4 (16%) e DMF in 1 paziente (4%), mentre 1 paziente era naïve (4%). Nei 64 soggetti trattati con Fingolimod l'ultimo DMT usato era IFN beta 1a in 30 pazienti (46,87%), IFN beta 1b in 13 pazienti (20,31%), GA in 18 (28,1%) e 3 pazienti erano naïve (4,68%).

Tutti i pazienti hanno effettuato una RMN prima dell'inizio della terapia di seconda linea per valutare l'attività radiologica di malattia. Si sono riscontrate lesioni Gdp in 15 pazienti a cui poi verrà somministrato Natalizumab (60%) e in 20 pazienti che poi assumeranno Gilenya (31,2%) con differenza significativa tra i due gruppi al basale

(p=0,013); anche confrontando i due gruppi in base al numero di lesioni Gdp si è riscontrata significatività statistica (p=0,012) in favore dei pazienti a cui verrà poi prescritto Natalizumab. In questi ultimi si è riscontrato anche un maggior numero totale di nuove lesioni alla RMN nelle sequenze T2, ma senza raggiungere adeguata significatività.

Per quanto riguarda le caratteristiche cliniche si è riscontrata significatività al basale (p=0,001) solo per quanto riguarda il numero di ricadute durante l'anno precedente l'inizio della terapia immunosoppressiva che è risultato maggiore nel gruppo Natalizumab (vedi Tab.6).

	Tutti i soggetti (n=89)	Natalizumab (n =25)	Fingolimod (n=64)	p
Sesso (F/M)	59 / 30	20 / 5	39 / 25	0,144 ♦
Anni (media ± DS)	39,8 ± 9,91	40,52 ± 8,10	39,52 ± 10,58	0,670 ♥
Durata di malattia in anni (media ± DS)	10, 12 ± 5,88	10,88 ± 4,96	9,82 ± 6,21	0,448 ♥
Ricadute l'anno precedente (media ± DS)	1,19 ± 0,99	1,72 ± 0,93	0,98 ± 0,95	0,001 ♥
Punteggio EDSS (mediana e range)	2,5 (1-8)	2,5 (1-6)	2,5 (1-8)	0,894 ♣
Numero totale nuove lesioni alla RMN (media ± DS)	3,78 ± 3,42	4,54 ± 3,92	3,5 ± 3,19	0,420 ♣
Numero lesioni Gdp+ alla RMN (media ± DS)	0,93 ± 1,94	1,72 ± 3,06	0,62 ± 1,16	0,012 ♣
Lesioni Gdp+ alla RMN				
presenti	35 (39,3%)	15 (60%)	20 (31,2%)	0,013 ♦
assenti	54 (60,7%)	10 (40%)	44 (68,8%)	
Precedente utilizzo di DMT				
1	47 (52,8%)	12 (48%)	35 (54,7%)	0,427 ♦
≥2	38 (47,2%)	12 (48%)	26 (40,6%)	
	♦ χ^2 ♣ Mann-Whitney ♥ Fisher			

Tab.6 Caratteristiche al basale dei soggetti in studio

Tutti i pazienti hanno effettuato una RMN all'incirca ogni 6-12 mesi dall'inizio della terapia immunosoppressiva senza riscontro di significative differenze tra i due gruppi

per quanto riguarda il numero delle lesioni Gdp riscontrate nel tempo e di nuove lesioni nelle sequenze T2 nel primo anno e per tutto il periodo di trattamento.

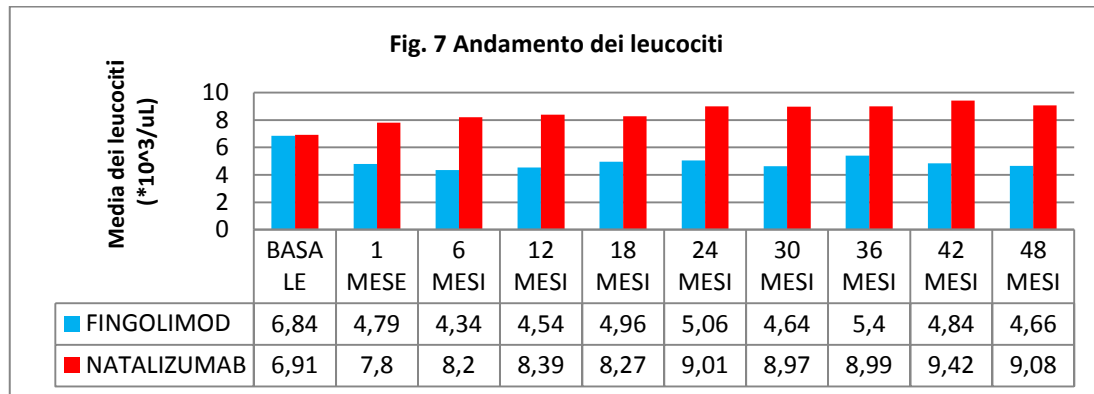
Non si è osservata significatività statistica nemmeno per quanto riguarda i parametri clinici: tasso annualizzato di ricadute, numero di ricadute su tutto il periodo di trattamento, progressione dell'EDSS; bisogna però segnalare che il gruppo in terapia con Natalizumab ha riportato un tasso minore di ricadute (vedi Tab.7).

	Tutti i soggetti (n=89)	Natalizumab (n =25)	Fingolimod (n=64)	p
Durata del trattamento in mesi (media ± DS)	34 ± 22	49 ± 28	28 ± 16	0,001♣
Tasso annualizzato di ricadute (ARR) (media ± DS)	0,10 ± 0,24	0,02 ± 0,06	0,13 ± 0,28	0,321 ♣
Numero di ricadute nel primo anno (media ± DS)	0,13 ± 0,34	0,12 ± 0,33	0,14 ± 0,35	0,799 ♣
Numero di lesioni Gd+ (media ± DS)	0,17 ± 0,51	0,12 ± 0,33	0,20 ± 0,56	0,746 ♣
Numero di nuove lesioni RMN nel primo anno (media ± DS)	0,43 ± 0,1	0,36 ± 0,86	0,45 ± 2,05	0,907 ♣
Numero nuove lesioni in T2 (media ± DS)	0,96 ± 1,79	1,04 ± 1,20	0,95 ± 1,99	0,146 ♣
Progressione EDSS (mediana e range)				
6 mesi	2.0 (1-7,5)	2.0 (1-6)	2.5 (1-7,5)	0,565 ♣
12 mesi	3.0 (1-7,5)	2.5 (1-6)	3.0 (1-7,5)	0,274 ♣
24 mesi	3.0 (1-7,5)	3.0 (1-6)	3.0 (1-7,5)	0,190 ♣
36 mesi	3.5 (1-7,5)	3.5 (1-7)	3.5 (1-7,5)	0,407♣
48 mesi	3.5 (1-7)	3,5 (1-7)	3,5 (1-6)	0,677 ♣
Progressione EDSS (≥0,5 mantenuto a 6 mesi)				
Sì	24 (27%)	10 (40%)	14 (21,9%)	0,083 ♦
No	65 (73%)	15 (60%)	50 (78,1%)	
	♦ χ^2 ♣ Mann-Whitney ♥ Fisher			

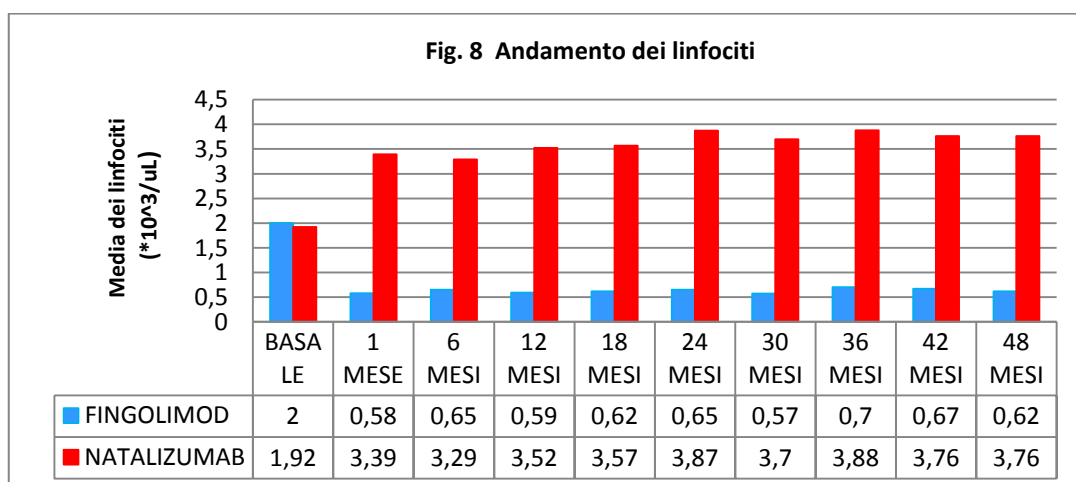
Tab.7 Caratteristiche dei soggetti in studio dopo l'inizio della terapia con Natalizumab e Fingolimod

Per quanto riguarda il valore dei leucociti e la formula leucocitaria si sono osservate importanti differenze già dal primo mese di trattamento in quanto nel gruppo dei pazienti trattati con Fingolimod si passava da un valore basale di $6,84 \cdot 10^3/\mu\text{L}$ a un valore di $4,79 \cdot 10^3/\mu\text{L}$ con una riduzione pari al 29,97% e questa tendenza continuava anche nei mesi successivi con un valore medio a 30 mesi intorno a

4,64*10³/uL. Nei soggetti in terapia con Natalizumab invece si è osservata una tendenza all'incremento con un valore medio a 30 mesi di 8,97*10³/uL rispetto al valore medio di 6,91*10³/uL riscontrato al basale (incremento del 29,81%).

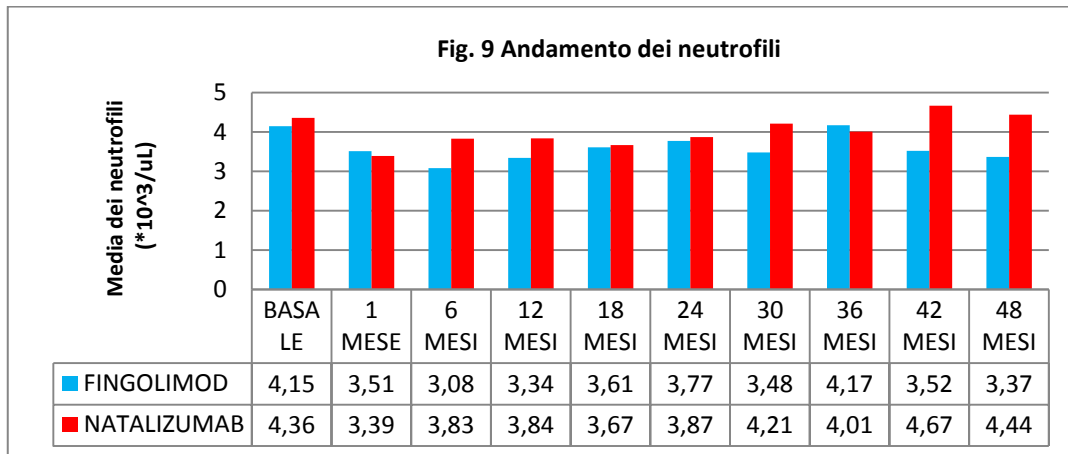


La popolazione in cui si è riscontrata la maggiore differenza è però quella dei linfociti, compatibilmente con il diverso meccanismo d'azione dei due farmaci. Nel gruppo trattato con Fingolimod dopo un mese di trattamento si è passati da un valore basale di 2*10³/uL ad un dosaggio di 0,58*10³/uL con una riduzione del 71%; tale tendenza è rimasta stabile nel tempo con il riscontro a 30 mesi di un valore medio praticamente identico a quello del primo mese. I linfociti nel gruppo Natalizumab hanno, invece, avuto un andamento crescente con riscontro a 30 mesi di un valore di 3,7*10³/uL (aumento rispetto al basale del 92,7%).

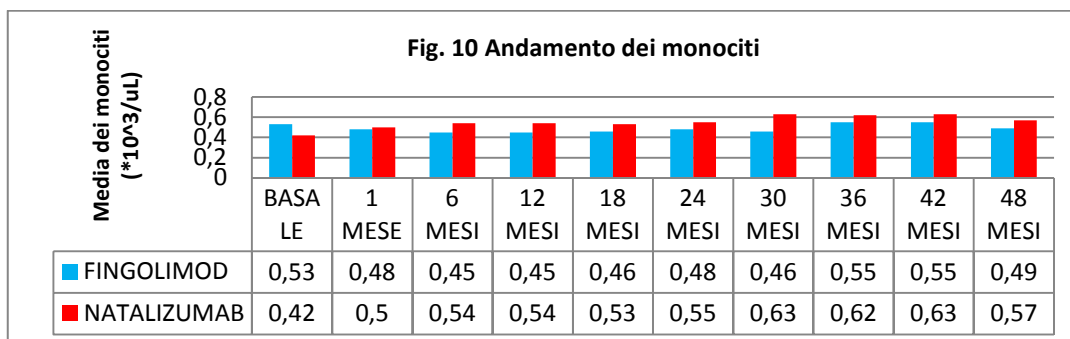


Per quanto riguarda i neutrofili essi hanno mostrato una riduzione nel gruppo Fingolimod del 15,42% rispetto al valore basale nel primo mese di trattamento (da 4,15*10³/uL a 3,51*10³/uL) per poi mantenersi stabili nel tempo con un valore medio a 30 mesi di 3,48*10³/uL. Nel gruppo in trattamento con Natalizumab si è

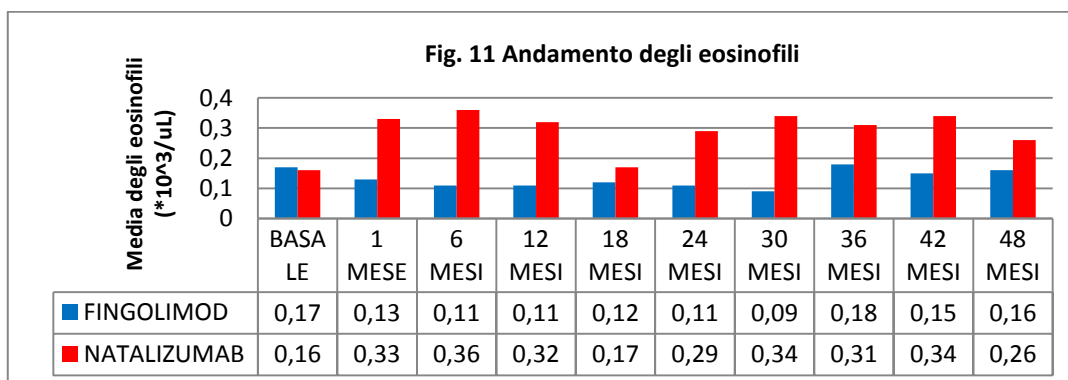
comunque avuta una riduzione del 22,24% nel primo mese (da valori di $4,36 \cdot 10^3/\text{uL}$ a $3,39 \cdot 10^3/\text{uL}$), mentre i mesi successivi hanno avuto un andamento fluttuante con riscontro a 30 mesi di un valore medio di $4,21 \cdot 10^3/\text{uL}$.

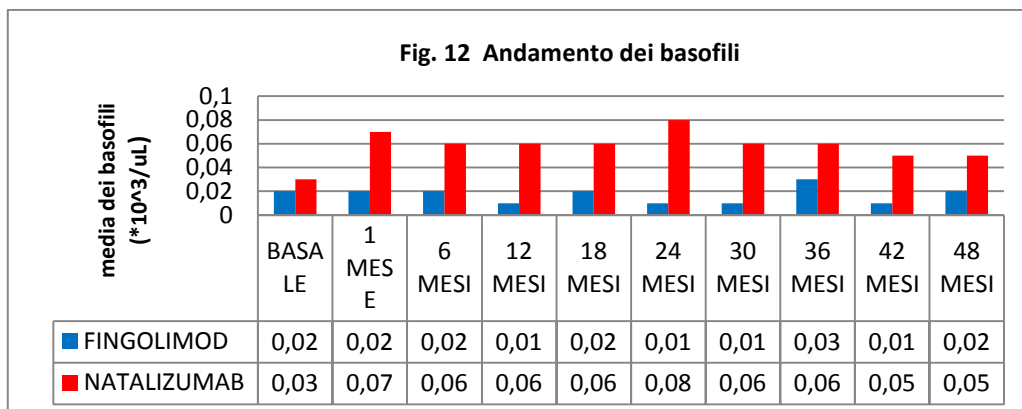


I monociti hanno mostrato un andamento pressoché costante nel gruppo Fingolimod con un valore a 30 mesi di $0,46 \cdot 10^3/\text{uL}$ (riduzione del 13,20% rispetto al valore basale), mentre nei pazienti trattati con Natalizumab si è riscontrato un andamento crescente con un valore medio a 30 mesi di $0,63 \cdot 10^3/\text{uL}$ (aumento del 50% rispetto alla baseline).

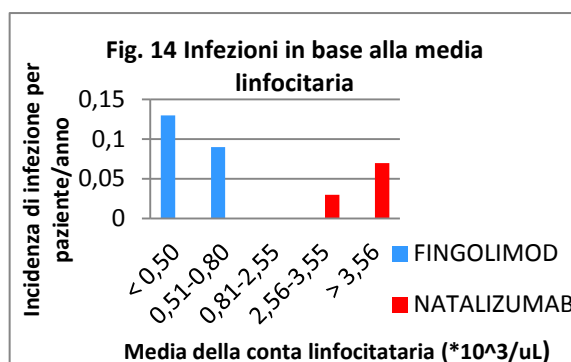
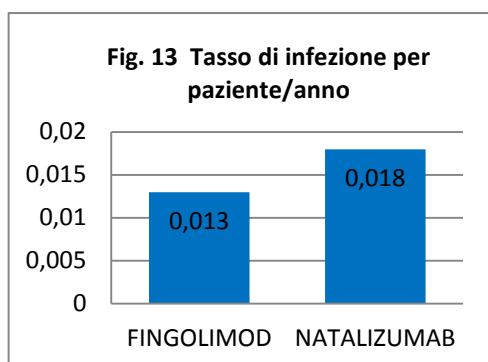


Basofili ed eosinofili hanno mostrato anch'essi lo stesso andamento dei monociti.





È stato riscontrato un incremento degli episodi infettivi in 7 pazienti (10,93%) in terapia con Fingolimod e in 12 pazienti del gruppo Natalizumab (48%); andando a valutare il tasso di incidenza per paziente/anno tra i due gruppi si è osservato un tasso di 0,013 per la terapia con Fingolimod e di 0,018 per il gruppo Natalizumab. Andando a rapportare il tasso di infezioni per paziente/anno per il livello di linfociti si è osservato come la maggior parte degli eventi infettivi si sia verificata nei pazienti con minore conta linfocitaria ($<0,50 \cdot 10^3/uL$) per quanto riguarda il gruppo Fingolimod e con maggiore ($>3,56 \cdot 10^3/uL$) per il gruppo trattato con Natalizumab.



Episodi infettivi	FINGOLIMOD	NATALIZUMAB
Vie urinarie	11 (48%)	12 (52,2%)
Vie respiratorie	2 (9%)	3 (13 %)
Vaginale (C. Albicans)	8 (35%)	0
Herpes Zoster	1 (4,3%)	0
Otite Media	0	1 (4,3%)

Tab. 8 Episodi infettivi riscontrati durante la terapia

Le infezioni riportate in entrambi i gruppi riguardavano soprattutto le vie urinarie e le vie respiratorie; nel gruppo Fingolimod venivano, inoltre, riportati otto episodi di infezioni vaginali da *Candida Albicans* e uno di Herpes Zoster, mentre nel gruppo Natalizumab si è verificato un episodio di otite media (vedi Tab. 8).

Natalizumab è stato sospeso da una paziente per sospetto radiologico di PML, confermato successivamente da ripetute analisi del liquor con dosaggio del JCV DNA mediante PCR. La paziente, di 46 anni, era stata trattata con Natalizumab per 45 mesi e non era mai stata trattata in precedenza con immunosoppressori, avendo effettuato terapia con GA dal 2007 al 2010. Era stata testata per gli anticorpi anti-JCV ed era risultata positiva ad agosto 2011, dopo un anno dall'inizio del Natalizumab, appena reso disponibile il test per il dosaggio anticorpale. Dopo la sospensione del farmaco la paziente è stata trattata con due sedute di plasmateresi; il deterioramento prevalentemente cognitivo e del linguaggio è progredito di pari passo con l'instaurarsi della sindrome da immunoricostruzione (IRIS) che si è risolta dopo alcuni mesi lasciando importanti sequele neurologiche.

Tutti i pazienti in terapia con Natalizumab hanno effettuato il dosaggio degli anticorpi anti JCV e sono risultati positivi nel tempo 17 pazienti, di cui solo 5 hanno interrotto il trattamento per aumentato rischio di PML.

Altri eventi avversi riportati nel gruppo Fingolimod sono stati dimagrimento (due pazienti) o aumento di peso (una paziente), ipertensione arteriosa (sei pazienti), melanoma in situ (una paziente) e lieve rialzo delle transaminasi in cinque pazienti, mentre nel gruppo Natalizumab si è verificato un modesto incremento dell'amilasi pancreatica (una paziente), anemia sideropenica (un paziente) ed un basalioma.

Per quanto riguarda gli effetti cardiologici di Fingolimod, gli eventi avversi riportati durante il monitoraggio cardiaco di 6 ore alla prima somministrazione sono stati riscontro di BAV di primo grado (in un paziente all'ECG finale), BAV di secondo grado Mobitz I (in un paziente durante il monitoraggio), QTc borderline (presente già in tre pazienti al basale, comparso in due pazienti durante il monitoraggio ed evidenziato in tre pazienti all'ECG finale), bradicardia sinusale (tre pazienti durante il monitoraggio e cinque pazienti all'ECG finale), extrasistolia ventricolare (due pazienti all'ECG finale), blocco di branca destra incompleto (due paziente al basale e

due all'ECG finale) ed emiblocco anteriore sinistro (in un paziente all'ECG finale). Tutte le lievi anomalie riportate avvenivano in pazienti asintomatici ed il monitoraggio è stato prolungato in quattro pazienti (5%) che presentavano bradicardia sinusale e un BAV di primo grado all'ECG finale; l'osservazione è stata prolungata di circa 2 ore fino a che il ritmo cardiaco è tornato normale, senza effettuare alcun tipo di intervento terapeutico.

	basale	monitoraggio 6 ore	ECG finale	prolungamento ECG	osservazi one 24 ore
QTc borderline- allungato	3 (4,7%)	2 (3,1%)	3 (4,7%)	0	0
Bradicardia sinusale	2 (3,1%)	3 (4,7%)	5 (7,8%)	3 (4,7%)	0
Extrasistolia ventricolare	0	0	2 (3,1%)	0	0
Blocco di branca destra incompleto	2 (3,1%)	2 (3,1%)	1 (1,6%)	0	0
Emiblocco anteriore sinistro	0	1 (1,6%)	1 (1,6%)	0	0
BAV 1° GRADO	0	1 (1,6%)	1 (1,6%)	1 (1,6%)	0
BAV 2° grado mobitz I	0	1 (1,6%)	0	0	0
PR ai limiti inferiori	2 (3,1%)	1 (1,6%)	1 (1,6%)	0	0

Tab. 9 Monitoraggio cardiologico durante la prima somministrazione di Fingolimod

	basale	1° ora	2° ora	3° ora	4° ora	5° ora	6° ora
Pa sistolica (media ± DS)	118 ± 12	115 ± 15	114 ± 14	114 ± 15	112 ± 14	113 ± 14	112 ± 12
Pa diastolica (media ± DS)	73 ± 11	73 ± 11	71 ± 11	72 ± 13	70 ± 11	68 ± 11	68 ± 9
Frequenza cardiaca (media ± DS)	74 ± 9	69 ± 8	67 ± 9	68 ± 9	67 ± 8	67 ± 10	66 ± 8

Tab. 10 Monitoraggio di pressione arteriosa e frequenza cardiaca durante la prima somministrazione di Fingolimod

Il monitoraggio di pressione arteriosa ha evidenziato una riduzione media di circa il 4% per la PA sistolica e del 4% per la PA diastolica nelle 6 ore; la frequenza cardiaca

media ha raggiunto il nadir alla 3° ora mantenendosi poi su un valore ridotto del 10% rispetto al basale (circa 8 bpm). La frequenza cardiaca più bassa osservata è stata di 46 bpm in una paziente che aveva una bradicardia costituzionale (FC basale 55 bpm); il riscontro è avvenuto alla 3° ora, asintomatico, ed è rientrato senza interventi farmacologici alla fine del normale monitoraggio (vedi Tab.10).

DISCUSSIONE

Il nostro studio osservazionale, condotto su una popolazione di pazienti con SM-RR trattati presso due centri clinici, ha confrontato la risposta terapeutica ai due principali farmaci immunosoppressori utilizzati come seconda linea nel trattamento della SM.

Le caratteristiche basali erano simili nei due gruppi di pazienti nonostante la diversa numerosità dei campioni, derivante dal fatto che una iniziale positività per gli anticorpi contro JCV virus aveva indirizzato la scelta terapeutica verso Fingolimod per motivi di sicurezza. Il gruppo dei pazienti che poi ha intrapreso Natalizumab presentava, però, un maggiore tasso di ricadute nell'anno precedente e una maggiore attività radiologica di malattia al basale soprattutto per quanto riguarda le lesioni captanti gadolinio; questi fattori sono stati probabilmente fondamentali nella decisione di somministrare questo farmaco, tenendo conto della maggiore efficacia dimostrata negli studi clinici. Il punteggio EDSS al basale era simile nei due gruppi, mentre la durata di trattamento era nettamente maggiore nel gruppo Natalizumab.

Le analisi di efficacia, tenuto di conto di queste diversità al basale, non hanno mostrato differenze statisticamente significative per quanto riguarda numero grezzo di ricadute nell'intero periodo e ARR, sebbene siano entrambi risultati inferiori nel gruppo in trattamento con Natalizumab; anche negli endpoints di RMN non vi è stata differenza statisticamente significativa.

Per quanto riguarda la progressione di malattia non è stata riscontrata differenza significativa tra i due gruppi considerando lo score EDSS a intervalli di 6 mesi e la progressione nell'intero periodo. Per entrambi i farmaci la progressione si è, però, verificata in una percentuale limitata di pazienti con valori leggermente maggiori nel gruppo in terapia con Natalizumab (40% rispetto al 14% con Fingolimod), tenendo

conto del fatto che tali soggetti sono stati osservati per un periodo di tempo maggiore ed avevano una maggiore attività di malattia al basale.

L'efficacia di Natalizumab è stata dimostrata nello studio AFFIRM che ha rilevato una riduzione del tasso di ricadute ad un anno del 68% rispetto al placebo e una riduzione del numero di nuove lesioni in T2 dell'83% e captanti gadolinio del 92%¹⁰⁹. Per quanto riguarda Fingolimod lo studio FREEDOMS ha evidenziato come tale farmaco comportasse una riduzione del 55% dell'ARR a 12 mesi rispetto al placebo. Inoltre è stato riscontrato un miglioramento del quadro di RMN in termini di numero, volume e captazione di gadolinio da parte delle lesioni¹³².

Non esistono ancora studi randomizzati con un confronto diretto tra Natalizumab e Fingolimod e nella reale pratica clinica la scelta tra questi due terapie rimane per ora empirica in quanto mancano criteri evidence-based che possano aiutare nella decisione. Solo pochi studi osservazionali hanno comparato l'efficacia dei due farmaci con risultati contrastanti ed al momento uno studio randomizzato e in doppio cieco sta reclutando pazienti (REVEAL trial¹³³). In quest'ottica anche il nostro studio si prefigge di dare un contributo al tema, andando a confrontare la risposta terapeutica a Natalizumab e a Fingolimod in una popolazione di pazienti con SM-RR trattati presso due centri clinici.

Uno studio retrospettivo condotto in Germania¹³⁴ ha comparato 190 pazienti con SM-RR trattati con Fingolimod e 237 con Natalizumab riscontrando in entrambi i gruppi una riduzione delle ricadute e una stabilità dell'EDSS; è stata evidenziata, inoltre, una percentuale maggiore di pazienti in terapia con Fingolimod senza attività di malattia, ma non è stata raggiunta una adeguata significatività statistica. Tra i limiti di questo studio vanno considerati la mancanza di dati di RMN e l'esclusione dei pazienti trattati per meno di 12 mesi, che potrebbero aver sospeso il farmaco per inefficacia nel primo anno di trattamento.

Anche nella casistica americana, rivista retrospettivamente mediante analisi del database del registro farmacologico, è stata osservata un'efficacia simile dei due farmaci, ma è stato considerato solo il parametro ricadute e la sua influenza sull'utilizzo delle risorse sanitarie¹³⁵.

Un studio clinico osservazionale italiano¹³⁶ su più piccoli campioni non ha mostrato differenze significative in termini di EDSS e di RMN nei pazienti in terapia con

Natalizumab (57 pazienti) rispetto a quelli in terapia con Fingolimod (30 pazienti). In questa casistica i pazienti in terapia con Natalizumab avevano una maggiore attività di malattia al basale e un minore rischio di ricadute in analisi corrette per la durata di malattia. Anche in questa casistica si è verificata una PML in una paziente con anticorpi anti JCV, in terapia da più di 24 mesi e con precedente utilizzo di immunosoppressori prima della terapia con Natalizumab.

In un altro studio¹³⁷ si sono osservati retrospettivamente i pazienti in cui era stata instaurato un trattamento con Fingolimod (36 pazienti) o Natalizumab (69 pazienti) in base alla presenza o meno di anticorpi anti JCV e considerando questa scelta come equivalente ad una sorta di randomizzazione (assumendo che JCV non sia coinvolto nella patogenesi della malattia). In questo studio, sebbene mancassero dati riguardanti lesioni in T2 ed EDSS, si è osservata una differenza significativa in favore di Natalizumab per quanto riguarda il tempo prima di un nuovo evento infiammatorio (ricaduta o lesione Gd⁺ alla RMN), dopo un'analisi aggiustata per variabili confondenti. Questo studio ha mostrato anche un tasso maggiore di sospensione per Natalizumab (36,2%) rispetto a Fingolimod (22,2%) in quanto è stato riscontrato un inatteso maggior tasso di conversione a JCV e per lo sviluppo di anticorpi neutralizzanti. Grazie a questo studio si può in parte concludere che, sebbene si abbia una efficacia superiore con Natalizumab, è più probabile che i pazienti che intraprendono Fingolimod riusciranno a portare avanti la terapia.

Nel 2015 è stato effettuato uno studio di confronto tra i due farmaci utilizzando MSBase (registro internazionale di outcome di malattia) ed effettuando una quasi-randomizzazione mediante il propensity score matching; sono stati valutati 578 pazienti (407 per Natalizumab e 171 per Fingolimod) con recente attività di malattia durante il precedente trattamento con IFN beta e GA, ma senza utilizzo di dati di RMN. Nel gruppo Natalizumab comparato a quello Fingolimod si è riscontrato un periodo di tempo maggiore relapse free, una riduzione dell'ARR e una regressione della disabilità mantenuta nel tempo¹³⁸.

Un recente studio condotto su 27 centri clinici francesi ha osservato 303 pazienti in terapia con Fingolimod e 326 con Natalizumab dopo uno e due anni di trattamento, dimostrando maggiore efficacia nel secondo gruppo per quanto riguarda ricadute e riscontro di nuove lesioni in T2 e captanti contrasto¹³⁹.

Un recente studio danese con 464 pazienti trattati con Natalizumab e 464 trattati con Fingolimod non ha riscontrato differenze tra i due farmaci nel ridurre l'attività clinica di malattia, ma anche in questo caso non sono stati utilizzati dati di RMN¹⁴⁰.

Un ulteriore studio italiano pubblicato recentemente ha analizzato 102 pazienti per ogni gruppo e ha dimostrato come Natalizumab abbia una maggiore efficacia nel ridurre le ricadute e l'attività radiologica di malattia, migliorando l'EDSS score e aumentando il numero di pazienti in NEDA-3. Anche in questa casistica i soggetti in terapia con Natalizumab avevano una maggiore attività di malattia al basale¹⁴¹.

I risultati del nostro studio vanno presi con cautela essendo piccolo il campione, in assenza di randomizzazione e non essendo condotto in cieco il che porta ad un bias di selezione dei pazienti. Tali risultati sono in linea con quelli di alcuni studi che non hanno evidenziato una differenza statisticamente significativa nell'efficacia dei due farmaci^{134,135,140}, sebbene nella nostra casistica si sia riscontrato una minore percentuale di ricadute e di lesioni Gdp nel gruppo in terapia con Natalizumab.

Altri centri hanno, invece, riscontrato una significativa validità di Natalizumab che può essere stata in parte sottovalutata nel presente studio. Tra i fattori da tener presenti c'è il fatto che i soggetti in terapia con questo farmaco sono stati seguiti per un tempo più lungo e sottoposti ad un numero maggiore di visite e RMN per cui risulterebbe difficile non riportare ogni ricaduta clinica o nuova lesione. Si tratta, inoltre, di soggetti con una maggiore attività di malattia al basale per cui è stata scelta proprio una terapia con Natalizumab, in relazione ai risultati positivi degli studi approvativi.

Manca, poi, un adeguato protocollo standardizzato di RMN per quanto riguarda l'acquisizione delle immagini, le tempistiche, la refertazione e il personale addetto che può inficiare il monitoraggio radiologico.

Nel nostro studio non si sono verificati effetti avversi non prevedibili sulla base del meccanismo d'azione dei farmaci e sulle indicazioni in scheda tecnica. La percentuale di sospensione è stata maggiore nel gruppo in trattamento con Natalizumab (32%) per questioni riguardanti il rischio o lo sviluppo di PML, mentre nel caso di Fingolimod il farmaco è stato sospeso per eccessiva linfopenia e rialzo delle transaminasi in pazienti con valori già borderline al basale.

Le principali complicanze di entrambe le terapie sono stati le infezioni che si sono verificati in una percentuale maggiore di pazienti in trattamento con Natalizumab (tasso di infezione per paziente/anno pari a 0,018), anche escludendo il caso di PML. L'analisi delle sottopopolazioni leucocitarie nel gruppo Natalizumab della presente casistica ha mostrato un significativo incremento dei linfociti con riscontro a 30 mesi di un valore di $3,7 \cdot 10^3/\text{uL}$ (aumento rispetto al basale del 92,7%); questo reperto era già stato descritto in letteratura e riguarda linfociti T e B e cellule natural killer (NK). L'incremento persiste nel lungo periodo indicando che l'efficacia di Natalizumab può essere correlata con la persistenza dei suoi effetti biologici attraverso un incremento stabile dei linfociti, soprattutto di tipo B. L'origine di quest'ultimi, sebbene l'azione di Natalizumab sulle diverse popolazioni del sistema immune rimanga tuttora non chiara, può derivare direttamente dal midollo osseo o dal pool delle cellule periferiche. Di fatto, data la scarsità di leucociti nel SNC rispetto a quelli in periferia e il minor contributo dato dalle cellule B della zona marginale e B memoria a comporre l'insieme dei linfociti del SNC, è improbabile che la ridotta migrazione dei linfociti al suo interno e la ridotta ritenzione di linfociti B nella milza possa significativamente influire sulla conta cellulare periferica¹⁴². L'incremento più significativo a carico dei linfociti B rispetto ai T, inoltre, suggerisce un ruolo primario del midollo osseo: infatti è stato dimostrato in uno studio clinico che i linfociti T e B di nuova produzione aumentano significativamente nel sangue periferico di pazienti trattati per 6 e 12 mesi con Natalizumab indicando che il farmaco influisce sul rilascio dai siti produttori¹⁴³. Questo può avere implicazioni per lo sviluppo di PML come dimostrato dal case report di una paziente che è andata incontro a PML e che aveva un deficit immune a fronte di un incremento dei linfociti B neoprodotti¹⁴⁴.

Su questa scia possono essere interpretati anche i nostri dati di aumento di episodi infettivi nel gruppo Natalizumab con più alto livello di linfociti, considerando che è stato dimostrato negli studi sopracitati l'aumento di linfociti B neo-prodotti a fronte di una riduzione dell'eterogeneità dei linfociti T e delle immunoglobuline.

Per quanto riguarda il gruppo in terapia con Fingolimod la riduzione dei linfociti intorno al 70% è rimasta stabile nel tempo con valori medi a 30 mesi intorno a $0,57 \cdot 10^3/\text{uL}$. Soltanto una paziente ha dovuto sospendere la terapia a seguito di

marcata linfopenia mantenuta nel tempo, in quanto è raccomandata l'interruzione del farmaco se si raggiungono valori inferiori a $0,2 \times 10^3/\mu\text{L}$. I nostri risultati sono compatibili con la riduzione riportata da altri studi clinici osservazionali, così come la più lieve riduzione dei neutrofili e la conseguente riduzione dei leucociti totali del 30% circa. Tuttavia nel nostro studio, analogamente a quanto avviene nelle casistiche ricavate dagli studi clinici registrativi di Fingolimod, nonostante la marcata linfopenia e il lungo periodo di esposizione non si sono osservati eventi infettivi di grado severo così come non ci sono state importanti infezioni opportunistiche. Questo può essere spiegato dal fatto che la conta cellulare circolante non costituisce l'intero corpo linfocitario e quindi una sua riduzione non implica perdita totale della funzione immunitaria. Infatti se da una parte i linfociti T naive e i linfociti T di memoria centrale sono trattenuti nei linfonodi, i linfociti T di memoria effettori (che mancano della componente CCR7 legata da Fingolimod) sono risparmiati e possono entrare nei tessuti ad esercitare da soli reazione infiammatoria o citotossica¹⁴⁵.

Uno studio clinico di confronto tra profilo immunitario nel sangue periferico e nel liquor (LCR) di pazienti in terapia con Fingolimod o Natalizumab ha riscontrato che i pazienti trattati con il primo farmaco avevano una ridotta percentuale di cellule B nel sangue periferico rispetto ai pazienti con SM naive o in terapia con Natalizumab; tali soggetti presentavano tuttavia un'alta frazione di cellule B nel liquor, a differenza dei pazienti in trattamento con Natalizumab che ne presentavano una più bassa. Per spiegare questo fenomeno si può pensare che, essendoci nel LCR netta prevalenza delle cellule della memoria è possibile che Fingolimod effettui un intrappolamento preferenziale dei linfociti B naive nei linfonodi.

È stato, inoltre, dimostrato come Fingolimod cambi in maniera significativa anche la distribuzione delle cellule immunitarie nel liquido cerebrospinale con una riduzione delle cellule T CD4+ e un incremento delle cellule T CD8+. L'impatto di questo farmaco sui CD4+ è meno pronunciato sul LCR piuttosto che nel sangue periferico dove tutti i pazienti hanno inversione del rapporto CD4+/CD8+; Natalizumab, invece, non ha impatto sul rapporto CD4+/CD8+ nel sangue periferico, ma lo inverte nel liquor dove si registra anche il più basso livello di cellule T CD4+. Inoltre, nel liquido cerebrospinale dei pazienti trattati con Fingolimod, non si sono riscontrate modificazioni nei livelli di IgG e nella sintesi intratecale. I pazienti in terapia con

Fingolimod nel medesimo studio mostravano anche ridotti valori di plasmablasti nel sangue periferico, mentre avevano un più alto valore di cellule NK e di monociti rispetto a pazienti in trattamento con altri DMT; quest'ultimo dato non è stato riprodotto nella nostra piccola casistica. Anche nel liquor di pazienti in terapia con Fingolimod la percentuale dei monociti e di cellule NK è stata dimostrata essere elevata se comparata a pazienti SM non trattati, mentre Natalizumab non ha mostrato influenza sulle cellule NK. Nel medesimo studio clinico è stata, inoltre, valutata la risposta anticorpale ad herpes simplex dato il pregresso riscontro di un'encefalite erpetica in una paziente in terapia con fingolimod, ma il DNA virale non è stato riscontrato in nessuno dei pazienti testati così come nessuno mostrava evidenza di sintesi intratecale di anticorpi specifici anti HSV.

Quindi poiché i cambiamenti nel liquido cerebrospinale non sono profondamente differenti da quelli provocati da Natalizumab è stata ipotizzata una compromissione del sistema immune nel SNC anche con Fingolimod¹⁴⁶.

Nel gruppo Fingolimod sono da considerare anche gli effetti cardiologici del farmaco, sebbene nella nostra popolazione non vi siano stati eventi avversi di grave entità; il monitoraggio è stato, infatti, prolungato solo in tre pazienti per bradicardia sinusale e in uno per BAV di primo grado che sono comunque rientrati senza bisogno di interventi terapeutici nell'arco di 2 ore.

I nostri dati sono uniformi a quanto riscontrato dagli studi clinici di fase tre che riportano una transitoria riduzione della frequenza cardiaca dopo 4-5 ore dalla prima somministrazione con una massima riduzione di 8-11 bpm e raramente bradicardia sinusale sintomatica (0,6% negli studi di fase 3 e nulla nel nostro campione) e blocco atrioventricolare di II grado (0,2% negli studi di fase 3 e nulla nel nostro campione)¹⁴⁷. Anche gli studi post-marketing ricalcano la casistica appena descritta, infatti, in una coorte di 212 pazienti osservati alla prima assunzione di Fingolimod si aveva una riduzione della frequenza cardiaca alla VI ora di circa 9,5 bpm, ma solo un soggetto aveva riportato un blocco atrioventricolare di secondo grado sintomatico. Nello stesso studio è stato osservato un incremento a lungo termine della pressione arteriosa in 5 soggetti, paragonabile ai risultati sul nostro piccolo campione in cui 6 pazienti hanno sviluppato tale evento avverso¹⁴⁸.

Visto il maggiore tasso di sospensione nei gruppi trattati con Natalizumab, altre due importanti questioni da gestire sono il possibile rischio di progressione della disabilità¹⁴⁹ e la frequente riattivazione di malattia una volta interrotto il trattamento. Uno studio del 2011 ha confrontato i risultati degli studi comparativi con placebo, IFN beta e GA andando a valutare l'attività di malattia (ricadute e presenza di lesioni Gdp) una volta sospeso Natalizumab. È stato dimostrato che l'attività ritornava entro 4-7 mesi ai valori basali compatibilmente con la farmacocinetica del farmaco ed indipendentemente dalla durata del trattamento e dal nuovo utilizzo di DMTs; è stato, inoltre, escluso un possibile effetto rebound in quanto, durante gli 8 mesi di monitoraggio, il livello di attività di malattia non aveva mai superato quello osservato nei soggetti a cui era stato somministrato placebo¹¹⁸. Questi risultati restano, tuttavia, controversi in quanto altri studi hanno riconosciuto un rebound dell'attività di malattia dopo sospensione di Natalizumab¹¹⁷.

Dal punto di vista gestionale una volta sospeso Natalizumab per l'aumento del rischio di PML il farmaco più frequentemente scelto per efficacia è al momento Fingolimod. Ci sono studi osservazionali che valutano il passaggio terapeutico dal primo al secondo farmaco, riportando in genere una riattivazione di malattia dopo lo switch soprattutto se si rispettano i tre mesi raccomandati per il wash-out prima di iniziare la nuova terapia¹⁵⁰. E' stato, dunque, ipotizzato che un inizio precoce di Fingolimod entro 12 settimane dalla sospensione di Natalizumab potrebbe prevenire il verificarsi di ricadute tenendo anche presente che alternative come la "bridging therapy" con Metilprednisolone o lo "switching" verso IFN o GA non hanno dati risultati paragonabili a quelli di Fingolimod e che al momento mancano dati adeguati sul passaggio a Teriflunomide e DMF¹⁵¹. Bisogna tenere presente, però, che questo approccio è poco utilizzato per il rischio di PML che i pazienti provenienti da Natalizumab mantengono grazie al proseguo dell'immunosoppressione nelle immediate vicinanze della sospensione.

Lo stato sierologico di JCV rappresenta un parametro critico nella decisione terapeutica e potrebbe rappresentare un vero e proprio criterio di selezione delle popolazioni da trattare, assumendo che il virus non abbia un ruolo nella patogenesi o nell'attività della malattia. Per alcuni autori, infatti, la sierologia potrebbe venire usata in un contesto prospettico per assegnare la terapia, confrontando Natalizumab

con un secondo agente, ma randomizzando solo i pazienti con negatività anticorpale per eliminare la variabile confondente del rischio di PML¹³⁷.

CONCLUSIONI

Negli ultimi venti anni le prospettive terapeutiche per la Sclerosi Multipla sono radicalmente cambiate e sono sempre più necessarie evidenze che permettano una adeguata scelta di trattamento che si adatti il più possibile alle caratteristiche individuali del paziente.

Il nostro studio, come tutti gli studi post-marketing e con i limiti sopradescritti, porta ulteriori informazioni su risposta terapeutica, sicurezza, tollerabilità ed aderenza al trattamento, in attesa di trials clinici randomizzati per una più affidabile comparazione di efficacia dei differenti farmaci.

Seguendo i pazienti in terapia immunosoppressiva nel tempo, abbiamo valutato come le differenze basali dei due gruppi possano aver influenzato il profilo di efficacia, senza, però, riscontrare grosse problematiche nella tollerabilità.

Il problema infettivo resta la complicità principale di questo tipo di trattamenti ed impone un appropriato monitoraggio del rischio di infezioni opportunistiche vista la gravità e le importanti sequele di una eventuale PML. Al momento, proprio per evitare quest'ultima, il parametro più importante da valutare resta la presenza di anticorpi anti-JCV che diventa il vero e proprio ago della bilancia nella scelta terapeutica.

La nostra valutazione calata nella reale pratica clinica ci fa, quindi, capire il bisogno di valutare i rischi e i benefici di ognuno dei due farmaci nell'ottica di una personalizzazione della terapia per ogni paziente; tenendo conto di alcune variabili già presenti in condizioni basali si potrà ipotizzare una buona risposta terapeutica e ridurre il rischio di possibili eventi avversi.

BIBLIOGRAFIA

1. D. L. Longo ASF, D. L. Hauser, S. L. Hauser, J. L. Jameson, J. Loscalzo HARRISON PRINCIPI DI MEDICINA INTERNA 2012.
2. Sawcer S, Franklin RJ, Ban M. Multiple sclerosis genetics. *The Lancet Neurology* 2014; **13**(7): 700-9.
3. Gale CR, Martyn CN. Migrant studies in multiple sclerosis. *Progress in neurobiology* 1995; **47**(4-5): 425-48.
4. Alter M, Kahana E, Loewenson R. Migration and risk of multiple sclerosis. *Neurology* 1978; **28**(11): 1089-93.
5. Cantorna MT, Snyder L, Lin YD, Yang L. Vitamin D and 1,25(OH)₂D regulation of T cells. *Nutrients* 2015; **7**(4): 3011-21.
6. Compston A, Coles A. Multiple sclerosis. *Lancet* 2008; **372**(9648): 1502-17.
7. Ascherio A, Munger KL. Environmental risk factors for multiple sclerosis. Part II: Noninfectious factors. *Annals of neurology* 2007; **61**(6): 504-13.
8. Sewell DL, Reinke EK, Hogan LH, Sandor M, Fabry Z. Immunoregulation of CNS autoimmunity by helminth and mycobacterial infections. *Immunology letters* 2002; **82**(1-2): 101-10.
9. Bach JF. The effect of infections on susceptibility to autoimmune and allergic diseases. *The New England journal of medicine* 2002; **347**(12): 911-20.
10. Levin LI, Munger KL, Rubertone MV, et al. Multiple sclerosis and Epstein-Barr virus. *Jama* 2003; **289**(12): 1533-6.
11. Belbasis L, Bellou V, Evangelou E, Ioannidis JP, Tzoulaki I. Environmental risk factors and multiple sclerosis: an umbrella review of systematic reviews and meta-analyses. *The Lancet Neurology* 2015; **14**(3): 263-73.
12. Stoner GL. Implications of progressive multifocal leukoencephalopathy and JC virus for the etiology of MS. *Acta neurologica Scandinavica* 1991; **83**(1): 20-33.
13. Ferrante P, Omodeo-Zorini E, Caldarelli-Stefano R, et al. Detection of JC virus DNA in cerebrospinal fluid from multiple sclerosis patients. *Multiple sclerosis (Houndmills, Basingstoke, England)* 1998; **4**(2): 49-54.
14. Munger KL. Childhood obesity is a risk factor for multiple sclerosis. *Multiple sclerosis (Houndmills, Basingstoke, England)* 2013; **19**(13): 1800.
15. Briggs FB, Acuna B, Shen L, et al. Smoking and risk of multiple sclerosis: evidence of modification by NAT1 variants. *Epidemiology* 2014; **25**(4): 605-14.
16. Farez MF, Fiol MP, Gaitan MI, Quintana FJ, Correale J. Sodium intake is associated with increased disease activity in multiple sclerosis. *Journal of neurology, neurosurgery, and psychiatry* 2015; **86**(1): 26-31.
17. Hedstrom AK, Akerstedt T, Hillert J, Olsson T, Alfredsson L. Shift work at young age is associated with increased risk for multiple sclerosis. *Annals of neurology* 2011; **70**(5): 733-41.
18. Kantarci OH. Genetics and natural history of multiple sclerosis. *Seminars in neurology* 2008; **28**(1): 7-16.
19. Olerup O, Hillert J. HLA class II-associated genetic susceptibility in multiple sclerosis: a critical evaluation. *Tissue antigens* 1991; **38**(1): 1-15.
20. Marrosu MG, Muntoni F, Murru MR, et al. HLA-DQB1 genotype in Sardinian multiple sclerosis: evidence for a key role of DQB1 *0201 and *0302 alleles. *Neurology* 1992; **42**(4): 883-6.

21. International Multiple Sclerosis Genetics C, Hafler DA, Compston A, et al. Risk alleles for multiple sclerosis identified by a genomewide study. *The New England journal of medicine* 2007; **357**(9): 851-62.
22. Frischer JM, Bramow S, Dal-Bianco A, et al. The relation between inflammation and neurodegeneration in multiple sclerosis brains. *Brain : a journal of neurology* 2009; **132**(Pt 5): 1175-89.
23. Gold R, Linington C, Lassmann H. Understanding pathogenesis and therapy of multiple sclerosis via animal models: 70 years of merits and culprits in experimental autoimmune encephalomyelitis research. *Brain : a journal of neurology* 2006; **129**(Pt 8): 1953-71.
24. Ben-Nun A, Kaushansky N, Kawakami N, et al. From classic to spontaneous and humanized models of multiple sclerosis: impact on understanding pathogenesis and drug development. *Journal of autoimmunity* 2014; **54**: 33-50.
25. Munz C, Lunemann JD, Getts MT, Miller SD. Antiviral immune responses: triggers of or triggered by autoimmunity? *Nature reviews Immunology* 2009; **9**(4): 246-58.
26. Louveau A, Smirnov I, Keyes TJ, et al. Structural and functional features of central nervous system lymphatic vessels. *Nature* 2015; **523**(7560): 337-41.
27. Ransohoff RM, Engelhardt B. The anatomical and cellular basis of immune surveillance in the central nervous system. *Nature reviews Immunology* 2012; **12**(9): 623-35.
28. Heneka MT, Kummer MP, Latz E. Innate immune activation in neurodegenerative disease. *Nature reviews Immunology* 2014; **14**(7): 463-77.
29. Gold R, Wolinsky JS. Pathophysiology of multiple sclerosis and the place of teriflunomide. *Acta neurologica Scandinavica* 2011; **124**(2): 75-84.
30. Hausler KG, Prinz M, Nolte C, et al. Interferon-gamma differentially modulates the release of cytokines and chemokines in lipopolysaccharide- and pneumococcal cell wall-stimulated mouse microglia and macrophages. *The European journal of neuroscience* 2002; **16**(11): 2113-22.
31. Alt C, Laschinger M, Engelhardt B. Functional expression of the lymphoid chemokines CCL19 (ELC) and CCL 21 (SLC) at the blood-brain barrier suggests their involvement in G-protein-dependent lymphocyte recruitment into the central nervous system during experimental autoimmune encephalomyelitis. *European journal of immunology* 2002; **32**(8): 2133-44.
32. Columba-Cabezas S, Serafini B, Ambrosini E, Aloisi F. Lymphoid chemokines CCL19 and CCL21 are expressed in the central nervous system during experimental autoimmune encephalomyelitis: implications for the maintenance of chronic neuroinflammation. *Brain pathology* 2003; **13**(1): 38-51.
33. Frisullo G, Nociti V, Iorio R, et al. IL17 and IFNgamma production by peripheral blood mononuclear cells from clinically isolated syndrome to secondary progressive multiple sclerosis. *Cytokine* 2008; **44**(1): 22-5.
34. Hedegaard CJ, Krakauer M, Bendtzen K, Lund H, Sellebjerg F, Nielsen CH. T helper cell type 1 (Th1), Th2 and Th17 responses to myelin basic protein and disease activity in multiple sclerosis. *Immunology* 2008; **125**(2): 161-9.
35. Kawanokuchi J, Shimizu K, Nitta A, et al. Production and functions of IL-17 in microglia. *Journal of neuroimmunology* 2008; **194**(1-2): 54-61.
36. Brucklacher-Waldert V, Steinbach K, Lioznov M, Kolster M, Holscher C, Tolosa E. Phenotypical characterization of human Th17 cells unambiguously identified by surface IL-17A expression. *Journal of immunology* 2009; **183**(9): 5494-501.
37. Kozovska ME, Hong J, Zang YC, et al. Interferon beta induces T-helper 2 immune deviation in MS. *Neurology* 1999; **53**(8): 1692-7.

38. Miller A, Shapiro S, Gershtein R, et al. Treatment of multiple sclerosis with copolymer-1 (Copaxone): implicating mechanisms of Th1 to Th2/Th3 immune-deviation. *Journal of neuroimmunology* 1998; **92**(1-2): 113-21.
39. Zoghi S, Amirghofran Z, Nikseresht A, Ashjazadeh N, Kamali-Sarvestani E, Rezaei N. Cytokine secretion pattern in treatment of lymphocytes of multiple sclerosis patients with fumaric acid esters. *Immunological investigations* 2011; **40**(6): 581-96.
40. Ji Q, Castelli L, Goverman JM. MHC class I-restricted myelin epitopes are cross-presented by Tip-DCs that promote determinant spreading to CD8(+) T cells. *Nature immunology* 2013; **14**(3): 254-61.
41. Batoulis H, Addicks K, Kuerten S. Emerging concepts in autoimmune encephalomyelitis beyond the CD4/T(H)1 paradigm. *Annals of anatomy = Anatomischer Anzeiger : official organ of the Anatomische Gesellschaft* 2010; **192**(4): 179-93.
42. Choi SR, Howell OW, Carassiti D, et al. Meningeal inflammation plays a role in the pathology of primary progressive multiple sclerosis. *Brain : a journal of neurology* 2012; **135**(Pt 10): 2925-37.
43. Howell OW, Reeves CA, Nicholas R, et al. Meningeal inflammation is widespread and linked to cortical pathology in multiple sclerosis. *Brain : a journal of neurology* 2011; **134**(Pt 9): 2755-71.
44. Hauser SL, Waubant E, Arnold DL, et al. B-cell depletion with rituximab in relapsing-remitting multiple sclerosis. *The New England journal of medicine* 2008; **358**(7): 676-88.
45. Kappos L, Li D, Calabresi PA, et al. Ocrelizumab in relapsing-remitting multiple sclerosis: a phase 2, randomised, placebo-controlled, multicentre trial. *Lancet* 2011; **378**(9805): 1779-87.
46. Obermeier B, Lovato L, Mentele R, et al. Related B cell clones that populate the CSF and CNS of patients with multiple sclerosis produce CSF immunoglobulin. *Journal of neuroimmunology* 2011; **233**(1-2): 245-8.
47. Venken K, Hellings N, Broekmans T, Hensen K, Rummens JL, Stinissen P. Natural naive CD4+CD25+CD127low regulatory T cell (Treg) development and function are disturbed in multiple sclerosis patients: recovery of memory Treg homeostasis during disease progression. *Journal of immunology* 2008; **180**(9): 6411-20.
48. Martinez-Forero I, Garcia-Munoz R, Martinez-Pasamar S, et al. IL-10 suppressor activity and ex vivo Tr1 cell function are impaired in multiple sclerosis. *European journal of immunology* 2008; **38**(2): 576-86.
49. Schneider A, Long SA, Cerosaletti K, et al. In active relapsing-remitting multiple sclerosis, effector T cell resistance to adaptive T(regs) involves IL-6-mediated signaling. *Science translational medicine* 2013; **5**(170): 170ra15.
50. Trapp BD, Peterson J, Ransohoff RM, Rudick R, Mork S, Bo L. Axonal transection in the lesions of multiple sclerosis. *The New England journal of medicine* 1998; **338**(5): 278-85.
51. Hemmer B, Cepok S, Nessler S, Sommer N. Pathogenesis of multiple sclerosis: an update on immunology. *Current opinion in neurology* 2002; **15**(3): 227-31.
52. Marik C, Felts PA, Bauer J, Lassmann H, Smith KJ. Lesion genesis in a subset of patients with multiple sclerosis: a role for innate immunity? *Brain : a journal of neurology* 2007; **130**(Pt 11): 2800-15.
53. Henderson AP, Barnett MH, Parratt JD, Prineas JW. Multiple sclerosis: distribution of inflammatory cells in newly forming lesions. *Annals of neurology* 2009; **66**(6): 739-53.
54. Trapp BD, Nave KA. Multiple sclerosis: an immune or neurodegenerative disorder? *Annual review of neuroscience* 2008; **31**: 247-69.
55. Weiner HL. A shift from adaptive to innate immunity: a potential mechanism of disease progression in multiple sclerosis. *Journal of neurology* 2008; **255** Suppl 1: 3-11.

56. Gandhi R, Laroni A, Weiner HL. Role of the innate immune system in the pathogenesis of multiple sclerosis. *Journal of neuroimmunology* 2010; **221**(1-2): 7-14.
57. Hernandez-Pedro NY, Espinosa-Ramirez G, de la Cruz VP, Pineda B, Sotelo J. Initial immunopathogenesis of multiple sclerosis: innate immune response. *Clinical & developmental immunology* 2013; **2013**: 413465.
58. Dorner M, Brandt S, Tinguely M, et al. Plasma cell toll-like receptor (TLR) expression differs from that of B cells, and plasma cell TLR triggering enhances immunoglobulin production. *Immunology* 2009; **128**(4): 573-9.
59. Akira S, Hemmi H. Recognition of pathogen-associated molecular patterns by TLR family. *Immunology letters* 2003; **85**(2): 85-95.
60. Zhang ZY, Zhang Z, Schluesener HJ. Toll-like receptor-2, CD14 and heat-shock protein 70 in inflammatory lesions of rat experimental autoimmune neuritis. *Neuroscience* 2009; **159**(1): 136-42.
61. Marta M. Toll-like receptors in multiple sclerosis mouse experimental models. *Annals of the New York Academy of Sciences* 2009; **1173**: 458-62.
62. Compton T, Kurt-Jones EA, Boehme KW, et al. Human cytomegalovirus activates inflammatory cytokine responses via CD14 and Toll-like receptor 2. *Journal of virology* 2003; **77**(8): 4588-96.
63. Wolf NA, Amouzegar TK, Swanborg RH. Synergistic interaction between Toll-like receptor agonists is required for induction of experimental autoimmune encephalomyelitis in Lewis rats. *Journal of neuroimmunology* 2007; **185**(1-2): 115-22.
64. Giacomini E, Severa M, Rizzo F, et al. IFN-beta therapy modulates B-cell and monocyte crosstalk via TLR7 in multiple sclerosis patients. *European journal of immunology* 2013; **43**(7): 1963-72.
65. Ellestad KK, Tsutsui S, Noorbakhsh F, et al. Early life exposure to lipopolysaccharide suppresses experimental autoimmune encephalomyelitis by promoting tolerogenic dendritic cells and regulatory T cells. *Journal of immunology* 2009; **183**(1): 298-309.
66. Shaw PJ, McDermott MF, Kanneganti TD. Inflammasomes and autoimmunity. *Trends in molecular medicine* 2011; **17**(2): 57-64.
67. Rizzo R, Gentili V, Casetta I, et al. Altered natural killer cells' response to herpes virus infection in multiple sclerosis involves KIR2DL2 expression. *Journal of neuroimmunology* 2012; **251**(1-2): 55-64.
68. Kummer JA, Broekhuizen R, Everett H, et al. Inflammasome components NALP 1 and 3 show distinct but separate expression profiles in human tissues suggesting a site-specific role in the inflammatory response. *The journal of histochemistry and cytochemistry : official journal of the Histochemistry Society* 2007; **55**(5): 443-52.
69. de Jong BA, Huizinga TW, Bollen EL, et al. Production of IL-1beta and IL-1Ra as risk factors for susceptibility and progression of relapse-onset multiple sclerosis. *Journal of neuroimmunology* 2002; **126**(1-2): 172-9.
70. Schrijver HM, Crusius JB, Uitdehaag BM, et al. Association of interleukin-1beta and interleukin-1 receptor antagonist genes with disease severity in MS. *Neurology* 1999; **52**(3): 595-9.
71. Guarda G, Braun M, Staehli F, et al. Type I interferon inhibits interleukin-1 production and inflammasome activation. *Immunity* 2011; **34**(2): 213-23.
72. Shinohara ML, Kim JH, Garcia VA, Cantor H. Engagement of the type I interferon receptor on dendritic cells inhibits T helper 17 cell development: role of intracellular osteopontin. *Immunity* 2008; **29**(1): 68-78.
73. Yokota S, Minota S, Fujii N. Anti-HSP auto-antibodies enhance HSP-induced pro-inflammatory cytokine production in human monocytic cells via Toll-like receptors. *International immunology* 2006; **18**(4): 573-80.

74. Olson JK, Miller SD. Microglia initiate central nervous system innate and adaptive immune responses through multiple TLRs. *Journal of immunology* 2004; **173**(6): 3916-24.
75. Mansilla MJ, Montalban X, Espejo C. Heat shock protein 70: roles in multiple sclerosis. *Molecular medicine* 2012; **18**: 1018-28.
76. Shi FD, Zhou Q. Natural killer cells as indispensable players and therapeutic targets in autoimmunity. *Autoimmunity* 2011; **44**(1): 3-10.
77. Hao J, Liu R, Piao W, et al. Central nervous system (CNS)-resident natural killer cells suppress Th17 responses and CNS autoimmune pathology. *The Journal of experimental medicine* 2010; **207**(9): 1907-21.
78. Zhang B, Yamamura T, Kondo T, Fujiwara M, Tabira T. Regulation of experimental autoimmune encephalomyelitis by natural killer (NK) cells. *The Journal of experimental medicine* 1997; **186**(10): 1677-87.
79. Takahashi K, Miyake S, Kondo T, et al. Natural killer type 2 bias in remission of multiple sclerosis. *The Journal of clinical investigation* 2001; **107**(5): R23-9.
80. Le Campion A, Pommier A, Delpoux A, et al. IL-2 and IL-7 determine the homeostatic balance between the regulatory and conventional CD4⁺ T cell compartments during peripheral T cell reconstitution. *Journal of immunology* 2012; **189**(7): 3339-46.
81. Axtell RC, de Jong BA, Boniface K, et al. T helper type 1 and 17 cells determine efficacy of interferon-beta in multiple sclerosis and experimental encephalomyelitis. *Nature medicine* 2010; **16**(4): 406-12.
82. Colotta F, Re F, Polentarutti N, Sozzani S, Mantovani A. Modulation of granulocyte survival and programmed cell death by cytokines and bacterial products. *Blood* 1992; **80**(8): 2012-20.
83. Hayashi F, Means TK, Luster AD. Toll-like receptors stimulate human neutrophil function. *Blood* 2003; **102**(7): 2660-9.
84. Tani K, Murphy WJ, Chertov O, Oppenheim JJ, Wang JM. The neutrophil granule protein cathepsin G activates murine T lymphocytes and upregulates antigen-specific IG production in mice. *Biochemical and biophysical research communications* 2001; **282**(4): 971-6.
85. Gidday JM, Gasche YG, Copin JC, et al. Leukocyte-derived matrix metalloproteinase-9 mediates blood-brain barrier breakdown and is proinflammatory after transient focal cerebral ischemia. *American journal of physiology Heart and circulatory physiology* 2005; **289**(2): H558-68.
86. Ibrahim MZ, Reder AT, Lawand R, Takash W, Sallouh-Khatib S. The mast cells of the multiple sclerosis brain. *Journal of neuroimmunology* 1996; **70**(2): 131-8.
87. Secor VH, Secor WE, Gutekunst CA, Brown MA. Mast cells are essential for early onset and severe disease in a murine model of multiple sclerosis. *The Journal of experimental medicine* 2000; **191**(5): 813-22.
88. Medic N, Vita F, Abbate R, et al. Mast cell activation by myelin through scavenger receptor. *Journal of neuroimmunology* 2008; **200**(1-2): 27-40.
89. Rozniecki JJ, Hauser SL, Stein M, Lincoln R, Theoharides TC. Elevated mast cell tryptase in cerebrospinal fluid of multiple sclerosis patients. *Annals of neurology* 1995; **37**(1): 63-6.
90. Pedotti R, De Voss JJ, Steinman L, Galli SJ. Involvement of both 'allergic' and 'autoimmune' mechanisms in EAE, MS and other autoimmune diseases. *Trends in immunology* 2003; **24**(9): 479-84.
91. Hume DA. The mononuclear phagocyte system. *Current opinion in immunology* 2006; **18**(1): 49-53.
92. Jack C, Ruffini F, Bar-Or A, Antel JP. Microglia and multiple sclerosis. *Journal of neuroscience research* 2005; **81**(3): 363-73.

93. Dendrou CA, Fugger L, Friese MA. Immunopathology of multiple sclerosis. *Nature reviews Immunology* 2015; **15**(9): 545-58.
94. Loeb C FE. *Neurologia*; 2003.
95. Allan H. Ropper RHB. Adam e Victor - Principi di Neurologia; 2006.
96. Confavreux C, Hutchinson M, Hours MM, Cortinovis-Tourniaire P, Moreau T. Rate of pregnancy-related relapse in multiple sclerosis. Pregnancy in Multiple Sclerosis Group. *The New England journal of medicine* 1998; **339**(5): 285-91.
97. Polman CH, Reingold SC, Banwell B, et al. Diagnostic criteria for multiple sclerosis: 2010 revisions to the McDonald criteria. *Annals of neurology* 2011; **69**(2): 292-302.
98. Lublin FD, Reingold SC. Defining the clinical course of multiple sclerosis: results of an international survey. National Multiple Sclerosis Society (USA) Advisory Committee on Clinical Trials of New Agents in Multiple Sclerosis. *Neurology* 1996; **46**(4): 907-11.
99. Lublin FD, Reingold SC, Cohen JA, et al. Defining the clinical course of multiple sclerosis: the 2013 revisions. *Neurology* 2014; **83**(3): 278-86.
100. Rovaris M, Confavreux C, Furlan R, Kappos L, Comi G, Filippi M. Secondary progressive multiple sclerosis: current knowledge and future challenges. *The Lancet Neurology* 2006; **5**(4): 343-54.
101. Katz Sand I, Krieger S, Farrell C, Miller AE. Diagnostic uncertainty during the transition to secondary progressive multiple sclerosis. *Multiple sclerosis (Houndmills, Basingstoke, England)* 2014; **20**(12): 1654-7.
102. Lassmann H, van Horssen J, Mahad D. Progressive multiple sclerosis: pathology and pathogenesis. *Nature reviews Neurology* 2012; **8**(11): 647-56.
103. Lucchinetti CF, Gavrilova RH, Metz I, et al. Clinical and radiographic spectrum of pathologically confirmed tumefactive multiple sclerosis. *Brain : a journal of neurology* 2008; **131**(Pt 7): 1759-75.
104. Calabresi PA. Diagnosis and management of multiple sclerosis. *American family physician* 2004; **70**(10): 1935-44.
105. Dhib-Jalbut S. Mechanisms of action of interferons and glatiramer acetate in multiple sclerosis. *Neurology* 2002; **58**(8 Suppl 4): S3-9.
106. He D, Zhang C, Zhao X, et al. Teriflunomide for multiple sclerosis. *The Cochrane database of systematic reviews* 2016; **3**: CD009882.
107. Gold R, Kappos L, Arnold DL, et al. Placebo-controlled phase 3 study of oral BG-12 for relapsing multiple sclerosis. *The New England journal of medicine* 2012; **367**(12): 1098-107.
108. Coyle PK. The role of natalizumab in the treatment of multiple sclerosis. *The American journal of managed care* 2010; **16**(6 Suppl): S164-70.
109. Polman CH, O'Connor PW, Havrdova E, et al. A randomized, placebo-controlled trial of natalizumab for relapsing multiple sclerosis. *The New England journal of medicine* 2006; **354**(9): 899-910.
110. Rudick RA, Stuart WH, Calabresi PA, et al. Natalizumab plus interferon beta-1a for relapsing multiple sclerosis. *The New England journal of medicine* 2006; **354**(9): 911-23.
111. Butzkueven H, Kappos L, Pellegrini F, et al. Efficacy and safety of natalizumab in multiple sclerosis: interim observational programme results. *Journal of neurology, neurosurgery, and psychiatry* 2014; **85**(11): 1190-7.
112. Rio J, Tintore M, Sastre-Garriga J, et al. Change in the clinical activity of multiple sclerosis after treatment switch for suboptimal response. *European journal of neurology* 2012; **19**(6): 899-904.
113. Belachew S, Phan-Ba R, Bartholome E, et al. Natalizumab induces a rapid improvement of disability status and ambulation after failure of previous therapy in relapsing-remitting multiple sclerosis. *European journal of neurology* 2011; **18**(2): 240-5.

114. Castillo-Trivino T, Mowry EM, Gajofatto A, et al. Switching multiple sclerosis patients with breakthrough disease to second-line therapy. *PloS one* 2011; **6**(2): e16664.
115. Bloomgren G, Richman S, Hotermans C, et al. Risk of natalizumab-associated progressive multifocal leukoencephalopathy. *The New England journal of medicine* 2012; **366**(20): 1870-80.
116. Nicholas JA, Racke MK, Imitola J, Boster AL. First-line natalizumab in multiple sclerosis: rationale, patient selection, benefits and risks. *Therapeutic advances in chronic disease* 2014; **5**(2): 62-8.
117. Planas R, Martin R, Sospedra M. Long-term safety and efficacy of natalizumab in relapsing-remitting multiple sclerosis: impact on quality of life. *Patient related outcome measures* 2014; **5**: 25-33.
118. O'Connor PW, Goodman A, Kappos L, et al. Disease activity return during natalizumab treatment interruption in patients with multiple sclerosis. *Neurology* 2011; **76**(22): 1858-65.
119. Chun J, Hartung HP. Mechanism of action of oral fingolimod (FTY720) in multiple sclerosis. *Clinical neuropharmacology* 2010; **33**(2): 91-101.
120. Agius M, Meng X, Chin P, Grinspan A, Hashmonay R. Fingolimod therapy in early multiple sclerosis: an efficacy analysis of the TRANSFORMS and FREEDOMS studies by time since first symptom. *CNS neuroscience & therapeutics* 2014; **20**(5): 446-51.
121. He A, Spelman T, Jokubaitis V, et al. Comparison of switch to fingolimod or interferon beta/glatiramer acetate in active multiple sclerosis. *JAMA neurology* 2015; **72**(4): 405-13.
122. Gold R, Comi G, Palace J, et al. Assessment of cardiac safety during fingolimod treatment initiation in a real-world relapsing multiple sclerosis population: a phase 3b, open-label study. *Journal of neurology* 2014; **261**(2): 267-76.
123. Coles AJ, Twyman CL, Arnold DL, et al. Alemtuzumab for patients with relapsing multiple sclerosis after disease-modifying therapy: a randomised controlled phase 3 trial. *Lancet* 2012; **380**(9856): 1829-39.
124. Linker RA, Kieseier BC, Gold R. Identification and development of new therapeutics for multiple sclerosis. *Trends in pharmacological sciences* 2008; **29**(11): 558-65.
125. Zaheer F, Berger JR. Treatment-related progressive multifocal leukoencephalopathy: current understanding and future steps. *Therapeutic advances in drug safety* 2012; **3**(5): 227-39.
126. Nali LH, Moraes L, Fink MC, Callegaro D, Romano CM, Oliveira AC. Natalizumab treatment for multiple sclerosis: updates and considerations for safer treatment in JCV positive patients. *Arquivos de neuro-psiquiatria* 2014; **72**(12): 960-5.
127. Bozic C, Richman S, Plavina T, et al. Anti-John Cunningham virus antibody prevalence in multiple sclerosis patients: baseline results of STRATIFY-1. *Annals of neurology* 2011; **70**(5): 742-50.
128. Linee guida Tysabri versione 14. maggio 2015.
129. Coles A. Newer therapies for multiple sclerosis. *Annals of Indian Academy of Neurology* 2015; **18**(Suppl 1): S30-4.
130. Gajofatto A, Benedetti MD. Treatment strategies for multiple sclerosis: When to start, when to change, when to stop? *World journal of clinical cases* 2015; **3**(7): 545-55.
131. Sormani MP, Rio J, Tintore M, et al. Scoring treatment response in patients with relapsing multiple sclerosis. *Multiple sclerosis (Houndmills, Basingstoke, England)* 2013; **19**(5): 605-12.
132. Kappos L, Radue EW, O'Connor P, et al. A placebo-controlled trial of oral fingolimod in relapsing multiple sclerosis. *The New England journal of medicine* 2010; **362**(5): 387-401.

133. The impact of natalizumab versus fingolimod on central nervous system (CNS) tissue damage and recovery in active relapsing-remitting multiple sclerosis (RRMS) subjects (REVEAL). ClinicalTrials.gov Identifier: NCT02342704, <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT02342704?term=natalizumab+fingolimod&rank=2> (accessed 26 April 2015).
134. Braune S, Lang M, Bergmann A. Second line use of Fingolimod is as effective as Natalizumab in a German out-patient RRMS-cohort. *Journal of neurology* 2013; **260**(12): 2981-5.
135. Bergvall N, Lahoz R, Reynolds T, Korn JR. Healthcare resource use and relapses with fingolimod versus natalizumab for treating multiple sclerosis: a retrospective US claims database analysis. *Current medical research and opinion* 2014; **30**(8): 1461-71.
136. Gajofatto A, Bianchi MR, Deotto L, Benedetti MD. Are natalizumab and fingolimod analogous second-line options for the treatment of relapsing-remitting multiple sclerosis? A clinical practice observational study. *European neurology* 2014; **72**(3-4): 173-80.
137. Carruthers RL, Rotstein DL, Healy BC, Chitnis T, Weiner HL, Buckle GJ. An observational comparison of natalizumab vs. fingolimod using JCV serology to determine therapy. *Multiple sclerosis (Houndmills, Basingstoke, England)* 2014; **20**(10): 1381-90.
138. Kalincik T, Horakova D, Spelman T, et al. Switch to natalizumab versus fingolimod in active relapsing-remitting multiple sclerosis. *Annals of neurology* 2015; **77**(3): 425-35.
139. Barbin L, Rousseau C, Jousset N, et al. Comparative efficacy of fingolimod vs natalizumab: A French multicenter observational study. *Neurology* 2016; **86**(8): 771-8.
140. Koch-Henriksen N, Magyari M, Sellebjerg F, Soelberg Sorensen P. A comparison of multiple sclerosis clinical disease activity between patients treated with natalizumab and fingolimod. *Multiple sclerosis (Houndmills, Basingstoke, England)* 2016.
141. Baroncini D, Ghezzi A, Annovazzi PO, et al. Natalizumab versus fingolimod in patients with relapsing-remitting multiple sclerosis non-responding to first-line injectable therapies. *Multiple sclerosis (Houndmills, Basingstoke, England)* 2016.
142. Koudriavtseva T, Sbardella E, Trento E, Bordignon V, D'Agosto G, Cordiali-Fei P. Long-term follow-up of peripheral lymphocyte subsets in a cohort of multiple sclerosis patients treated with natalizumab. *Clinical and experimental immunology* 2014; **176**(3): 320-6.
143. Zanotti C, Chiarini M, Serana F, et al. Peripheral accumulation of newly produced T and B lymphocytes in natalizumab-treated multiple sclerosis patients. *Clinical immunology (Orlando, Fla)* 2012; **145**(1): 19-26.
144. Sottini A, Capra R, Zanotti C, et al. Pre-existing T- and B-cell defects in one progressive multifocal leukoencephalopathy patient. *PloS one* 2012; **7**(4): e34493.
145. Francis G, Kappos L, O'Connor P, et al. Temporal profile of lymphocyte counts and relationship with infections with fingolimod therapy. *Multiple sclerosis (Houndmills, Basingstoke, England)* 2014; **20**(4): 471-80.
146. Kowarik MC, Pellkofer HL, Cepok S, et al. Differential effects of fingolimod (FTY720) on immune cells in the CSF and blood of patients with MS. *Neurology* 2011; **76**(14): 1214-21.
147. DiMarco JP, O'Connor P, Cohen JA, et al. First-dose effects of fingolimod: Pooled safety data from three phase 3 studies. *Multiple sclerosis and related disorders* 2014; **3**(5): 629-38.
148. Paolicelli D, Manni A, Drenzo V, et al. Long-term cardiac safety and tolerability of fingolimod in multiple sclerosis: A postmarketing study. *Journal of clinical pharmacology* 2015; **55**(10): 1131-6.

149. Prosperini L, Annovazzi P, Capobianco M, et al. Natalizumab discontinuation in patients with multiple sclerosis: Profiling risk and benefits at therapeutic crossroads. *Multiple sclerosis (Houndmills, Basingstoke, England)* 2015; **21**(13): 1713-22.
150. Rinaldi F, Seppi D, Calabrese M, Perini P, Gallo P. Switching therapy from natalizumab to fingolimod in relapsing-remitting multiple sclerosis: clinical and magnetic resonance imaging findings. *Multiple sclerosis (Houndmills, Basingstoke, England)* 2012; **18**(11): 1640-3.
151. Havla J, Kleiter I, Kumpfel T. Bridging, switching or drug holidays - how to treat a patient who stops natalizumab? *Therapeutics and clinical risk management* 2013; **9**: 361-9.

RIGRAZIAMENTI

Ai miei genitori senza i quali nulla di tutto questo sarebbe mai stato possibile e che mi sono sempre stati vicini, facendomi capire il tipo di persona che volevo diventare e dandomi il supporto necessario per raggiungere questo obiettivo.

A Davide che mi ha accompagnato lungo gli anni più belli e più complicati di questo cammino condividendo progetti, fatiche e soddisfazioni, senza mai smettere di sopportarmi.

A Giuseppe che parla poco, ma è sempre stato una persona su cui realmente contare.

A Stefano che mi ha mostrato cosa vuol dire stimare davvero una persona e mi ha fatto entrare in un mondo che avrei rischiato di non conoscere mai.

A mio padre, Marily ed Alessandro che mi hanno insegnato cosa significa essere bravi medici ed amare il proprio lavoro, aiutandomi ad andare avanti anche quando la mia passione vacillava.

Ad Annalisa che mi ha permesso di iniziare questo studio e mi ha aiutato nella sua realizzazione.

A Sara che ogni giorno mi dimostra che anche nella diversità c'è la vera amicizia.

A tutti gli amici, troppi per essere elencati, che hanno avuto una parte, piccola o grande, in questo percorso e, nonostante tutto, non mi hanno mai lasciata.